

DIPLOMADOLGOZAT

Bakó Fanni

**Gödöllő
2024**



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Szent István Campus

Növényvédelmi Intézet

Növényorvos mesterképzési szak

FÖLDIGILISZTA (*DENDROBAENA VENETA*) FAJ HATÁSA

NÖVEKEDÉST SERKENTŐ ÉS BIOKONROLL

MIKROORGANIZMUSOK ELŐFORDULÁSÁRA

Belső konzulens: Dr. Turóczy György
egyetemi docens

**Belső konzulens
intézete/tanszéke:** **NVI Integrált
Növényvédelmi Tanszék**

Külső konzulens: Dr. Simon Barbara
egyetemi docens

**Külső konzulens
intézete/tanszéke:** **KTI Talajtani Tanszék**

Készítette: **Bakó Fanni**
XB0F2I

Szent István Campus

2024

TARTALOMJEGYZÉK

1. Bevezetés és célkitűzés	5
2. Szakirodalmi áttekintés	7
2.1. Biológiai növényvédelem	7
2.2. Hasznos mikroorganizmusok a biológiai növényvédelemben	8
2.3. Antagonista mikroorganizmusok általános jellemzése.....	9
2.4. A kísérletben használt mikroorganizmusok általános jellemzése	10
2.4.1. <i>Bacillus thuringiensis</i> bemutatása	10
2.4.2. <i>Pseudomonas</i> spp. bemutatása	12
2.4.3. <i>Trichoderma</i> spp. bemutatása.....	13
2.5. Entomopatogén gombák jellemzése	14
2.5.1. <i>Metarhizium</i> spp. bemutatása	15
2.6. A földigiliszták.....	15
2.6.1. A földigiliszták szerepe a talajban.....	16
2.6.2. <i>Dendrobaena veneta</i> faj általános jellemzése	17
2.7. Földigiliszták szerepe a mikroorganizmusok terjesztésében	18
2.7.1. A hasznos mikroorganizmusok elterjedése	21
2.7.2. A káros mikroorganizmusok szétszóródása	21
2.7.3. <i>Bacillus thuringiensis</i> és a földigiliszták közti kölcsönhatás	21
2.7.4. <i>Pseudomonas</i> spp. és a földigiliszták közti kölcsönhatás	22
2.7.5. <i>Trichoderma</i> spp. és a földigiliszták közti kölcsönhatás.....	22
2.7.6. <i>Metarhizium</i> spp. és a földigiliszták közti kölcsönhatás	23
3. A vizsgálatok módszerei.....	25
3.1. Vizsgálati terület	25
3.2. A kísérlet felépítése	25
3.3. Talajkémiai mérések.....	29
3.3.1. Talaj pH meghatározása	29
3.3.2. Talaj karbonát tartalmának meghatározása (Scheibler kalciméterrel):	30
3.3.3. Vezetőképesség meghatározása	32
3.3.4. Szervesanyag tartalom meghatározása CNS elemanalizátor segítségével	33
4. Eredmények és értékelésük	35
4.1. Biokontroll szervezetek hatása a földigiliszták tömegére	35
4.2. Földigiliszták hatása a biokontroll szervezetekre	36
4.2.1. <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> kezelés eredményei.....	36

4.2.2.	<i>Pseudomonas fluorescens</i> kezelés eredményei	36
4.2.3.	<i>Trichoderma asperellum</i> kezelés eredményei	37
4.2.4.	<i>Metarhizium anisopliae</i> kezelés eredményei	38
4.3.	Kezelt földigilisztákkal végzett további kísérletek.....	39
4.3.1.	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> kimutatása.....	39
4.3.2.	<i>Pseudomonas fluorescens</i> kimutatása	40
4.3.3.	<i>Trichoderma asperellum</i> kimutatása	41
4.3.4.	<i>Metarhizium anisopliae</i> kimutatása.....	42
4.4.	Dózis kísérlet	43
4.5.	Talajkémiai vizsgálatok.....	44
5.	Következtetések és javaslatok	45
6.	Összefoglalás	47
7.	Köszönetnyilvánítás	48
8.	Irodalomjegyzék.....	49
9.	Nyilatkozatok.....	55

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

A mai mezőgazdaságnak folyamatosan lépést kell tartania a konstans változó világgal, amely egyre több nehézséget, egyre több kihívást állít elénk (input anyagok exponenciális drágulása, Európa szintű politikai helyzetek kialakulása, az Európai Unió szabályozásai, növényvédelmi nehézségek, klimatikus tényezők). A növényvédelemnek is készen kell állnia a változásokra. Az Európai Unió nagy hangsúlyt fektet arra, hogy kialakítson egy zöldebb, élhetőbb és fenntarthatóbb mezőgazdaságot. Egyik fő célkitűzése, hogy a 2030-ig tartó időszakban csökkentsék a kémiai növényvédőszer alkalmazását, a műtrágya használatot és ezen anyagok környezetre gyakorolt negatív hatását. Céljuk, hogy növeljék a vadon élő szervezetek (növények, állatok) biodiverzitását, ezek mellett fontos alappillér a természetes ellenségek és hasznos élő szervezetek (pl. beporzók) védelme, azok életterének bővítése a biodiverzitási stratégia szerint.

Az integrált növényvédelem jó alapot biztosít ezek teljesítéséhez, de a különböző külső tényezők megnehezítik a károsítókkal szembeni folyamatos harcot. A különböző növényvédőszer használatának csökkentésével esetleges kivonásával és a többi szabályozással nemvárt akadályokba ütközünk (pl. inváziós fajok megjelenése, „rég” károsítók újra előtérbe kerülése) melyekre készen kell állnia a mezőgazdaságnak, mind a jelenben, mind a jövőben. A változtatásoknak köszönhetően egyre nagyobb teret hódít magának a biológiai növényvédelem, amely magába foglalja a különböző vírus-, baktérium- és gombaszervezeteket; természetes ellenségeket és hasznos élő szervezeteket; különböző stratégiákat és megoldásokat egy-egy károsítóval szemben legyen az kórokozó, kártevő vagy gyom. Folyamatos kutatások, kísérletezések zajlanak a mezőgazdaság ezen szegmensében, melynek köszönhetően szintén pozitív irányba mutat a biológiai növényvédelem helyzete. A direktíva által a növényvédőszereket gyártó multinacionális cégek is felfigyeltek az adott problémára és egyre több engedélyezett biológiai készítményt tesznek elérhetővé a piacon.

Az Európai Unió továbbá nagy hangsúlyt fektet a talajaink védelmére, biodiverzitásuk megtartására. Az intenzív mezőgazdaság alig hagy lehetőséget a talaj regenerációjára, így a biológiai élet is amortizálódik. Nincs annyi lebontó mikro- és makroszervezet amelyek fenn tudnák tartani a talaj homeosztázisát. A biológiai növényvédelemben használt készítményeket nagy számban teszik ki a talajban is megtalálható antagonistá hatású baktériumok és gombák, melyek pozitív hatással vannak a talajélet előrelendítésében.

Célkitűzés:

- A vizsgált földigiliszták hatása a biokontroll mikroorganizmusokra telepszámváltozás tekintetében
- A vizsgált biokontroll mikroorganizmusok hatása a földigilisztákra nézve
- A biokontroll kezelések hatása a talaj kémiai jellemzőire

2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Biológiai növényvédelem

A modern mezőgazdaság folyamatosan fejlődik és alakul. A növényvédelem, amelyet még mindig nagyrészt kémiai növényvédőszer alkalmazásával végeznek, szintén átmeneti szakaszban van. Ezért az új gyakorlatok fokozatos integrálása a mezőgazdasági termelési rendszer figyelembevételével nemcsak a környezetvédelmi, hanem a társadalmi-gazdasági dimenziót is bevonja (Purvis et al. 2019). Emellett a termelékenység és a nemzetközi kereskedelem folyamatos növekedése fokozza bizonyos betegségek előfordulását, ami több növényvédőszer alkalmazását teszi szükségessé. Ezt követően ezek a peszticidek növelik a környezetszennyezést, és vegyszermaradványokat halmoznak fel a kezelt ökoszisztémában. Más alternatívák, például a genetikai utak gyakorlati szempontból érdekes védekezési módszereket kínálnak, egyúttal erősítik a kórokozóban a rezisztens gének megjelenésének kockázatát is (Pilet-Nayel et al. 2017).

Ahhoz, hogy beintegráljuk a biopeszticideket az integrált növényvédelmi (IPM) programokba, jó kiindulópont a peszticidek fenntartható használatáról szóló 2009/128/EK uniós keretirányelv és a keretirányelv III. mellékletében felsorolt nyolc alapelv. Ezen alapelvek mögött az áll, hogy az agrárökoszisztémákat a lehető legkevésbé zavaró, egészséges termesztésre összpontosítanak, beleértve a természetes kártevő-szabályozó mechanizmusok megőrzését és támogatását. A természetes kártevők támogatása jó lehetőségeket kínál a biopeszticidek kiegészítő használatára. Fontos figyelembe venni, hogy a mezőgazdasági kultúrákban a kártevők, természetes ellenségeik és más hasznos szervezetek (pl. parazitoidok és beporzók) nagy fajszámban fordulnak elő. Az IPM-programok egyik legfontosabb szempontja ezeknek a hasznos szervezeteknek a támogatása, hogy a kártevőket elfogadható küszöbértékeken belül tartsák. Ez magában foglalja a gazdaság tájképének olyan irányítását, amely támogató élőhelyet is teremt (Kiss & Delos, 2020).

A mikroorganizmusokat alkalmazó biológiai védekezés, lehetséges módja annak, hogy részben kiváltsuk a szintetikus vegyszerek használatával járó szennyezést és csökkentjük a környezetre gyakorolt negatív hatásukat. A biológiai védekezés koncepciója fontos technológiai, gazdasági és politikai vitát váltott ki, amelynek célja a fenntartható mezőgazdaság fejlesztése alacsonyabb ökológiai költségek mellett (O'Brien, 2017). Ezek az intézkedések egyértelműen azt tűzték ki célként, hogy csökkentsek a mérgező szermaradványok

felhalmozódását a környezetben és az élelmiszerlánc különböző szegmenseiben. Azt is jelzik, hogy nincsenek alternatívák a mezőgazdasági ágazat peszticidektől való függésének csökkentésére. Ebben az összefüggésben döntő fontosságúnak tűnik a biológiai védekezéssel kapcsolatos ismereteink elmélyítése, hogy javítsuk felhasználásukat és hatékonyságukat (Barratt et al. 2018). Mindezen okok miatt a kutatások jól haladnak a biológiai védekezés olyan perspektívája felé, amely a mikrobiális inokulum alkalmazásán alapul, és amely kiegészítheti a többi fent említett módszert a növénybetegségek elleni küzdelem stratégiájának kialakításához. A biológiai védekezés terén ígéretes eredmények születtek, különösen egyes antagonista biológiai védekező szerek (Biological Control Agents-BCA) alkalmazása után, mint a *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. és *Burkholderia* spp. és *Trichoderma* sp., valamint a lomb- és talajbetegségeket okozó kórokozók, például az *Agrobacterium radiobacter* var *radiobacter*, *Erwinia* spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora* spp. és *Pythium* spp. ellen. A kórokozók szaporodásának megállítása mellett számos BCA közvetlenül is elősegítheti a növények növekedését (Köhl et al. 2019; Ruiu, 2018). A legtöbb esetben azonban a BCA-k hatékonysága mindig alacsonyabbnak bizonyult, mint a szintetikus fungicideké. Ennek oka lehet a rizoszféra összetettsége és az, hogy nagy mennyiségű BCA-t kell alkalmazni a teljes rizoszféra lefedéséhez. Ez csak akkor lehetséges, ha a BCA-t folyamatosan és következetesen alkalmazzák. Ezenkívül a BCA-k formulálása és alkalmazásának módja is befolyásolhatja hatékonyságukat (Abd-Elgawad & Askary, 2020).

Bár az új mikroorganizmusok, mint potenciális biopeszticidek kutatása fokozódott, a biopeszticideket korlátozott számban állították elő. A kis- és középvállalkozások azonban kezdenek alkalmazkodni ehhez az új, feltörekvő piachoz. A mikroorganizmusok segítségével történő biológiai védekezéssel kapcsolatos kutatások jelentős lendületet vesznek, bár a területen történő alkalmazások még mindig korlátozottak. A BCA-k szántóföldi alkalmazása többnyire korlátozott a nem egységes hatékonyság, a piacon való korlátozott elérhetőség és a gazdálkodók BCA készítményekkel szembeni szkepticizmusa miatt (Lahlali et al. 2022).

2.2. Hasznos mikroorganizmusok a biológiai növényvédelemben

A biológiai növényvédelem tulajdonképp a mezőgazdaságban előforduló károsítóknak (kórokozók, kártevők, gyomnövények) visszaszorítására valamint elpusztítására használt hasznos szervezeteket és természetes ellenségeket foglalja magába. Számos olyan szervezetet tart számon a biológiai növényvédelem, amelyek használata alkalmas lehet a károsítók ellen.

Ezek a szervezetek lehetnek a legkülönbözőbb mikroorganizmusok (pl. vírusok, baktériumok, gombák); növények és azok kivonatai; természeteshez hasonló, de szintetikus vegyületek (pl. piretroidok, mezotrion, strobilurinok, spinozád), az „egyszerű anyagok”, ragadozók és parazitoidok (Helyer et al. 2014).

2.3. Antagonista mikroorganizmusok általános jellemzése

A biológiai védekezés kifejezés a természetes vegyületeken, kivonatokon vagy mikroorganizmusokon alapuló kezeléseket egy csoportját foglalja magában. Ezek a kezelések bizonyítottan hatékonyak a növények védelmében mind a biotikus, mind az abiotikus stresszhatásokkal szemben. Ez a védelem az alkalmazott BCA-tól függően többféle rendszerrel érhető el, amelyek közül kiemeljük az antagonista mikroorganizmusok használatát és a gazdaszervezet rezisztencia indukcióját.

Az antagonista mikroorganizmusok a növény rizoszférájában vagy talajszint feletti részein kolonizálhatnak anélkül, hogy a növényben kárt okoznának, megakadályozva ezzel más patogén mikroorganizmusok kolonizációját. Ezek a mikroorganizmusok amellest, hogy versengenek az ökológiai résért, változatos funkciójú vegyületeket bocsáthatnak ki a környezetükbe. Kimutatták, hogy egyes exudátumok képesek megakadályozni a kórokozók fejlődését, részleges védelmet nyújtva a növényeknek. Másrészt egyes mikroorganizmusok olyan molekulákat is kiválasztanak, amelyek stresszes körülmények között javítják a növények növekedését és teljesítményét, például hormonokat és sziderofórokat (Llorens & Agustí-Brisach, 2022).

A *Trichoderma* fajok és más antagonista gomba mellett számos antagonista baktériumfajt, köztük a *Pseudomonas fluorescens*, a *P. putida*, *P. aerofaciens*, *Burkholderia cepacia*, *Bacillus subtilis*, *B. polymyxa* és *B. ceras* fajokat is sikeresen alkalmazták a különböző talajban előforduló gombabetegségek biológiai védekezésében. Ilyen kórokozók például a *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Verticillium dahliae*, *Gaeumannomyces graminis* és az általuk okozott talajbetegségek, mint például a magrothadás, a fonnyadás, a gyökérrothadás, biológiai úton szabályozták a főbb mezőgazdasági kultúrákon, köztük a tápanyagigényes növényeken, cukorrépán, búzán, rizsen és különböző zöldségeken (Heydari & Pessarakli, 2010).

Bár a biológiai védekezéssel kapcsolatos kutatások többsége a talajból terjedő gombabetegségekre összpontosított, számos tanulmány a növények föld feletti részein előforduló betegségeket és rendellenességeket okozó gombás kórokozók vizsgálatát tűzte ki célul. Kísérletekben például tanulmányozták a gomba kórokozókkal szembeni biológiai védekezésének lehetőségét a filozférában, és azt állapították meg, hogy gomba és baktérium antagonisták segítségével csökkenthető a betegségek előfordulása és kialakulása (Llorens & Agustí-Brisach, 2022).

2.4. A kísérletben használt mikroorganizmusok általános jellemzése

2.4.1. *Bacillus thuringiensis* bemutatása

A *Bacillus thuringiensis* (Bt) az egyik legszélesebb körben használt entomopatogén mikroorganizmus a rovarkártevők biológiai védekezésében (Samsonov et al. 1997). A történeti beszámolók érdekes módon azt mutatják, hogy a Bt rovarölő tulajdonságait már sok évvel a baktérium azonosítása előtt felismerték, egyesek szerint a Bt spórákat már az ókori Egyiptomban is használták. A modern korban a *Bacillus thuringiensis* (Bt) baktériumot először 1901-ben izolálta Shigetane Ishiwatari japán biológus a selyemhernyók hervadásos betegségének vizsgálata során, és *Bacillus sotto* névvel illette. Tíz évvel később ugyanezt a baktériumot Ernst Berliner izolálta egy beteg mediterrán lisztmolyból (*Ephestia kuehniella*) a németországi Tübingia tartományban, és *B. thuringiensis*-nek nevezte el (Siegel, 2000). A Bt közeli rokonságban áll a *B. cereus* (Bc), a *B. mycoides* és a *B. anthracis* baktériumokkal. A Bt-t csak az különbözteti meg a *Bacillus cereus*-től, hogy a sporuláció során egy vagy több zárványtestet termel, amelyekről megállapították, hogy gerinctelenekre, elsősorban a *Coleoptera*, *Diptera* és *Lepidoptera* rendbe tartozó rovarfajokra toxikusak (Andrews et al. 1997). Esetenként a baktériumok elveszítik a kristályképző képességüket, és ekkor megkülönböztethetetlené válnak magától a *B. cereus*-től.

A *B. thuringiensis* fakultatív anaerob, mozgékony, Gram-pozitív, spóráképző talajbaktérium. A baktérium spórái különböző rovarölő kristályfehérjékből (ICP) álló paraszporális zárványokat tartalmaznak, amelyek túlnyomórészt egy vagy több Cry és/vagy Cyt fehérjét (más néven δ -endotoxinokat) tartalmaznak, amelyek erős és specifikus rovarölő hatással rendelkeznek. A Bt rovarölő tulajdonságai már több mint egy évszázada ismertek, és az ezen a szervezeten alapuló kereskedelmi termékek 70 éve kaphatók, a biopeszticidek piacának több mint 90%-át foglalják el. A mikrobaformulák nagy potenciállal rendelkeznek az

IPM programokban, mivel vezető biopeszticiddé váltak a kereskedelmi mezőgazdaságban, az erdőgazdálkodásban és a csípőszúnyog gyérítésben. A Bt a természetes mikrobiom alkotórészeként fennmaradhat az alkalmazás után. Speciális hatásmechanizmusuknak köszönhetően a Bt-termékek valószínűleg nem jelentenek veszélyt a gerincesekre vagy a nem célzott gerinctelenek nagy többségére. Sok húsevő ízeltlábú és más, nem célszervezetek közé tartozó szervezet azonban nem a célzott növényevőkön, hanem a nem célzott növényevőkön keresztül kerül kapcsolatba a Bt-toxinokkal. Az ökoszisztémában betöltött szerepének megértése döntő fontosságú ahhoz, hogy a lehető legtöbbet hozzassuk ki ebből a biológiai védekező szerből (Mathew et al. 2014).

A Bt-re történő transzformációjával kapcsolatos vizsgálatok kimutatták, hogy a kristályképződést biztosító gének egy plazmidon találhatóak. A Bt meghatározó jellemzője, hogy képes kristályos fehérjementes zárványokat termelni. A Bt által képződött jellegzetes kristályos fehérjés paraszpórikus zárványok különböző rovarölő kristályfehérjékből (ICP) állnak. A Bt-ben a paraszpórikus zárványok létezését először 1915-ben jegyezték fel (Berliner, 1915), de fehérjeösszetételüket csak az 1950-es években sikerült meghatározni (Angus, 1954). A Bt alfajok a sporuláció során az endospóra mellett egynél több zárványt is szintetizálhatnak, amelyek különböző ICP-ket tartalmazhatnak. Az ICP-k, amelyeket δ -endotoxinoknak is neveznek, az ICP összetételétől függően különböző alakúak (bipiramis, kocka alakú, lapos romboid, gömb alakú vagy két kristálytípust tartalmazó kompozit). Részleges összefüggést állapítottak meg a kristálmorfológia, az ICP-összetétel és a célzott rovarokkal szembeni bioaktivitás között (Höfte & Whiteley, 1989; Lynch & Baumann, 1985). A Bt alfajok osztályozását a flagella (H) antigének szerológiai elemzése alapján az 1960-as évek elején vezették be (de Barjac & Bonnefoi, 1962). Ezt a szerotípus szerinti osztályozást morfológiai és biokémiai kritériumokkal egészítették ki 1981-ben. 1977-ig csak 13 Bt alfajt írtak le, és akkoriban minden alfaj csak lepkeszúnyoglárvákra volt mérgező. A *Diptera*, *Coleoptera* és *Nematoda* rendek számára toxikus további alfajok felfedezésével bővült a gazdanövénytartomány és jelentősen megnőtt az alfajok száma. 1998 végéig több mint 67 alfajt azonosítottak a flagelláris H-szerovarok alapján. Mostanra a különböző kritériumok, például a fágérzékenység és a plazmidprofilok használata a szerotipizálással együtt mintegy 100 alfaj osztályozását eredményezte (Sanahuja et al. 2011). Ez az áttekintés nem terjed ki a Bt-nek az ökoszisztémában lévő más mikrobiális szervezetekkel való (lehetőséges) kölcsönhatásaira.

A három leggyakrabban alkalmazott *Bacillus thuringiensis* törzs növényi kártevőkkel szemben (Mathew et al. 2014):

- *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*- *Lepidoptera* fajok ellen
- *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis*- *Coleoptera* fajok ellen
- *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*- *Diptera* fajok ellen

2.4.2. *Pseudomonas* spp. bemutatása

A *Pseudomonas* nemzetség Gram-negatív, pálcika alakú, egyenes vagy enyhén görbült, poláris flagellákkal rendelkező sejteket tartalmaz. (Chu et al. 2019). A *Pseudomonas fluorescens* fajok, hét biotípusra osztottak fel A-tól F-ig, amelyek később, I, II, III, IV és V biovárként váltak ismertté. A D. és E. biovárok a következőképpen módosultak: *P. chlororaphis* és *P. aureofaciens*, és *P. chlororaphis* sp. néven klasztereződtek. A *Pseudomonas* egyszerű tápanyagigénnyel rendelkezik a különböző szubsztrátok, aromás vegyszerek, halogénszármazékok és rekalcitráns szerves maradványok lebontására vonatkozó tulajdonságaik miatt (Sah & Singh, 2016), különböző *Pseudomonas* törzsek növekedését tanulmányozták több különböző szerves szubsztrátumon, nagy változatosságról számolva be a *Pseudomonas* nemzetségben (Sah et al. 2021).

A fluoreszkáló *Pseudomonas* törzsek három csoportba sorolhatók (Bossis et al. 2000):

1. Fitopatogén, citokróom c-oxidáz-pozitív fajok: *P. cichorii*, *P. marginalis*, *P. tolaasii*
2. Nem fitopatogén, nem nekrogén törzsek: *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. chlororaphis*, *P. aureofaciens*, *P. aeruginosa*
3. Fitopatogén és nekrogén, citokróom c-oxidáz nélküli fajok: *P. syringae*, *P. viridiflava*.
4. A nem fluoreszkáló *Pseudomonas* fajok közé tartozik a *P. stutzeri*, a *P. mendocina*, a *P. alcaligenes*, és a *P. pseudoalcaligenes*

A *Pseudomonas* a rizoszférikus zónákban jelen lévő más mikrobák fitopatogén aktivitását különböző metabolikus tevékenységek, például sziderofór-termelés, antibiotikum-termelés és hidrogén-cianid (HCN) termelés révén szabályozza. A *Pseudomonas* által kibocsátott növekedési faktorok segítik a növényt a rizoszférikus kompetenciában, a hatékony mikrobakolonizációban és a szinergikus együttműködésekben. Számos *Pseudomonas* faj, mint például a *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. jessenii*, *P. putida* és *P. vancouverensis*, a növényi

kórokozók bioszuppressziójában betöltött szerepéről ismert (Yu et al. 2011). A közelmúltban különböző *Pseudomonas* spp. származékai, az így előállított antimikrobiális vegyületekből, sziderofórokból és orto-hidroxi-benzoészavból előállított piacképes termékek hatásosnak bizonyultak számos kórokozó ellen (Costa-Gutierrez et al. 2020). A *Pseudomonas* fajok mind szerepet játszanak a növényi növekedés serkentésében (Plant Growth Promoting Rhizobacteria-PGPR), mind a fitopatogén szervezetek elleni védekezésben, mivel képesek olyan specifikus vegyületeket kiválasztani, amelyek a foszfát-szolubilizáló vegyületek termelésében, a sziderofór-termelésben és a nitrogénkötésben játszanak alapvető szerepet a növény-növekedést elősegítő tevékenységük részeként. A *Pseudomonas* fajok antagonista vegyületeket, például sejtfalbontó enzimeket, antibiotikumokat stb. termelnek a növényi betegségek kezelése érdekében, és mutualista kapcsolatot tartanak fenn a társult növényvel (Sah et al. 2021).

2.4.3. *Trichoderma* spp. bemutatása

A *Trichoderma* fajok biológiai védekező anyagként való felhasználásának lehetőségét 70 évvel ezelőtt Weindling (1932) vetette fel, aki elsőként mutatta ki e nemzetség tagjainak parazita aktivitását olyan kórokozókkal szemben, mint a *Rhizoctonia solani* (Chet, 1990) (Weindling, 1932). Azóta a *Trichoderma* számos fajt tesztelték biokontroll hatóanyagként; és kimutatták, hogy számos gazdaságilag fontos föld feletti és talajlakó növényi kórokozót megtámadnak. Számos, sikeres biológiai védekezést mutató kísérletben az antagonista *Trichoderma* nekrotróf mikoparazitának bizonyult (Elad et al. 1983b). A mikoparazitizmust úgy definiálják, mint a gombatallusz közvetlen megtámadását, amelyet a parazita tápanyag-hasznosítása követ. A nekrotróf mikoparaziták, mint például a *Trichoderma*, azok, amelyek a gazdasejteket az invázió előtt vagy közvetlenül utána elpusztítják, és a felszabaduló tápanyagokat felhasználják. Ezek a mikoparaziták általában rendkívül agresszívek és pusztítóak. Széles gazdaszervezetük széles taxonómiai csoportokra terjed ki, és parazitizmusuk módját tekintve viszonylag nem specializálódtak. A nekrotrófok antagonista tevékenysége antibiotikumok, toxinok vagy hidrolitikus enzimek olyan arányú termelésének köszönhető, amelyek a gazdaszervezetük halálát és pusztulását okozzák (Manocha & Sahai, 1993). Tanulmányok szerint a *Trichoderma* által végzett biokontroll magában foglalja:

- a konkurenciát,
- a parazitizmust,

- az antibiózist és
- a gazdanövényekben a védekező válaszok kiváltását, vagy ezek kombinációját.

A parazitizmus összetett folyamat, amely magában foglalja (Herrera-Estrella & Chet, 2004):

- a gazdaszervezet felismerését,
- hidrolitikus enzimek kiválasztását,
- a hifák behatolását és invázióját, és
- a gazdaszervezet lízisét.

Néhány példa a *Trichoderma* nemzetség fajai közül (Guzmán-Guzmán et al. 2023):

T. harzianum, *T. aggressivum*, *T. citrinoviride*, *T. asperellum*, *T. ghanense*, *T. hamatum*, *T. koningii*, *T. pseudokoningii*, *T. virens*, *T. longibrachiatum*, *T. polysporum*, *T. tomentosum*, *T. atroviride*, *T. gamsii*, *T. koningii*, *Hypocrea jecorina/Trichoderma reesei*, *T. spirale*, *T. viridescens*, *T. viride* és *T. koningiopsis*.

2.5. Entomopatogén gombák jellemzése

Az entomopatogén gombák (EPF) értékes forrásai a biológiai védekező szereknek, különösen a különböző kultúrnövényeket károsító rovarok elleni védekezésben. A gombák természetes entomopatogének, amelyek gyakran okoznak járványos betegségeket a gazdaszervezetben, és számos olyan kívánatos tulajdonsággal rendelkeznek, amelyek elősegítik biológiai védekező ágensként való fejlődésüket. Jelenleg az entomopatogén gombákon alapuló, kereskedelmi forgalomban kapható biopeszticidek a szakpiacok nagy részét foglalják el. A különböző fejlett eszközök és technikák lehetővé tették a tudományos munkatársak számára számos faj azonosítását filogenetikai alapon, valamint az *Ascomycota* törzs különböző entomopatogén taxonjainak mikroszkópos és molekuláris jellemzőinek kombinációjával. Bár ezeket a gombákat hagyományosan ízeltlábúak kórokozóinak tekintették, a legújabb vizsgálatok kimutatták, hogy ökológiai rések széles skáláját foglalják el (Brunner-Mendoza et al. 2019). Jól ismert, hogy az entomopatogén gombák *Metarhizium*-ok növényi patogén antagonisták, szimbiózis endofiták, rizoszféra kolonizátorok és növény-növekedést elősegítők. Így a *Metarhizium* fajok a biológiai védekező ágensként való fellépés mellett más agroökológiai célokra is felhasználhatók (Patel, 2020).

2.5.1. *Metarhizium* spp. bemutatása

A *Metarhizium* nevű gomba nemzetséghez tartozó *Hyphomycetes* gombákat az Antarktisz kivételével valamennyi kontinens fertőzött rovarjaiból és talajából izolálták, és az Antarktisi Kör közelében is történtek izolációk (Roddam & Rath, 1997). Bár e gombák egyes izolátumainak meglehetősen korlátozott a gazdanövénykörük, a csoport inkább arról ismert, hogy a rovarok széles spektrumát képes elpusztítani, beleértve a legalább hét rendbe tartozó rovarokat is. A *Metarhizium* által kiváltott betegség köznap neve a "zöld muskardin", amely a rovar tetemek zöld konídiumokkal való bevonódásán alapul. A *Metarhizium anisopliae* volt világszerte az első olyan gomba, amelyet tömegesen állítottak elő és használtak fel rovarkárttevők elleni védekezésre (Steinhaus, 1975). Az ezt követő több mint 100 év során számos kísérlet történt a *Metarhizium* spp. kártevők elleni védekezésre való felhasználására, változó sikerrel.

A *Metarhizium* spp. történelmileg a *Beauveria* spp. után a második helyen áll a rovarok ellen a szántóföldön leggyakrabban használt gombák között; bizonyos jelek arra utalnak, hogy e két gomba szerepe felcserélődött, vagy hamarosan felcserélődik. Ez a nemzetség molekuláris szintű vizsgálatok tárgyát képezte olyan alapvető témákban is, mint a virulencia és a gazdaspecifikusság; jelenleg valószínűleg ez az entomopatogén gombafaj a legjobban megértett nemzetség ezeken az alapvető szinteken. A *Metarhizium* spp. jelenlegi világméretű kutatási erőfeszítései intenzívek. A *Metarhizium*-mal kapcsolatos kutatások gyors növekedése, majd a tartósan magas tudományos teljesítmény magyarázható több fontos, világszerte bekövetkezett szemléletváltással, valamint számos ígéretes *Metarhizium*-alapú kártevő-ellenőrzési és molekuláris biológiai törekvés elindításával (Roberts & St leger, 2004).

További entomopatogén *Metarhizium* fajok (Velavan et al. 2022):

- *M. robertsii*,
- *M. majus*,
- *M. quizhouense*

2.6. A földigiliszták

A földigiliszták (*Lumbricidae*), a legtöbb típusú talajban megtalálhatóak és szerepük kulcsfontosságú a talajok egészségének és termékenységének fenntartásában. Még Charles Darwin is felismerte fontosságukat, és rámutatott arra, hogy tevékenységük hozzájárul a talajok

termékenységének alakulásához (Darwin, 1881). Sajnos azonban napjainkban még mindig nem kapnak elegendő figyelmet a mezőgazdaságban, a populáció csökkenés pedig részben az intenzív talajművelésnek (taposás, bolygatás, művelőtalp kialakulás), részben a különböző növényvédőszer, műtrágyák konstans alkalmazásának köszönhető. Azonban megfelelő és okszerű talajműveléssel (pl. talajmintavétel alapján történő tápanyagutánpótlás, szerves trágya alkalmazása), helyre lehetne állítani a talaj mikroflóráját valamint makrofaunáját. A földigiliszták száma és diverzitása létfontosságú a talajok termékenységének megőrzése szempontjából. Jelenlétük segít fenntartani a talajok biológiai sokszínűségét és aktivitását, valamint hozzájárulnak a klímaváltozáshoz való alkalmazkodáshoz is, mivel sokrétű pozitív talajfunkciót biztosítanak (Pfiffner & FiBL, 2021).

Bár a sivatagok és a sarkvidéki területek kivételével szinte minden zónában megtalálhatóak földigiliszták, a mezőgazdasági területeken a faj- és egyedszám ennél jóval alacsonyabb lehet. Általában a közép-kötött vályogos talajokat kedvelik, míg a kötött agyag talajok és a homoktalajok nem kedvezőek számukra. A földigiliszták hímnős állatok, 2-8 évig élnek fajtától függően. Fejlődésük hosszú ideig tart, és évente csak egy generáció fejlődik ki egy egyed által lerakott 8-12 kokonból (pete). Az ivarérett példányokat a testüket körülölelő nyereg, vagyis a clitellum jól felismerhetővé teszi. Leginkább a kissé meleg és nedves időjárást kedvelik, ilyenkor aktívak a szaporodás terén is. Száraz, forró időszakokban mélyebbre húzódnak a talajba, míg télen a fagymentes járataikban maradnak, és anyagcseréjük minimális szinten működik (Pfiffner & FiBL, 2021).

2.6.1. A földigiliszták szerepe a talajban

A földigiliszták szerepe kiemelkedő a talaj szervesanyag lebontásának folyamatában és a talajképződésben. Az általuk végzett tevékenységek számos fontos feladatot látnak el, amelyek kulcsfontosságúak a talaj egészségének és termékenységének fenntartásában.

- **Ásványi talaj anyag elegyítése:** A földigiliszták testükkel mozognak a talajban, és nagy intenzitással elegyítik az ásványi talajanyagot. Emellett ürülékük, vagyis az általuk lerakott talajmorzsák vízellenálló alapot képeznek, ami elengedhetetlen a talajosodás folyamatában.
- **Szerves anyag lebontása:** A földigiliszták fontos feladata a szerves anyagok lebontása, különösen a lehullott faleveleké. Általuk elfogyasztott anyagokat a talajjal együtt fogyasztanak el, és a megemésztett táplálék ürülékei koncentráltan tartalmazzák a tápanyagokat, amelyek közvetlenül felvehetővé válnak a növények számára.

- **Talajszerkezet javítása:** A földigiliszták ürüléke, amely szerves és szervetlen frakciókból állnak, morzsalékossá teszik a talajszerkezetet. Ez javítja a talaj szellőzését és növeli a makropórusok számát, ami elősegíti a gyökerek mélyebb rétegekbe történő behatolását és növeli a vízelvezető képességet (Pfiffner & FiBL, 2021).
- **Talajökológiai funkciók:** A földigiliszták által épített járatok javítják a víz talajba jutását és eloszlását, csökkentik a felszíni lefolyást és az eróziót. A mély járatokat építő fajoknak köszönhetően a vízbefogadó képesség is javul (Stefanovits et al. 1999).
- **Talaj szervesanyag-utánpótlása:** A földigiliszták által a talajba kerülő növényi maradványok miatt különböző C:N arányú anyagok állnak rendelkezésre, amelyek átalakulnak alacsonyabb C:N arányú anyaggá. Ez hozzájárul a talaj szerves szén- és humusztartalmának fenntartásához, ami fontos tényező a klímaváltozással szembeni küzdelemben (Pfiffner & FiBL, 2021).

A felsorolt tevékenységük nyomán a talaj megfelelő szerkezetének kialakulását segítik elő, és a talaj biológiai aktivitását fenntartva hozzájárulnak a mezőgazdasági termelés fenntarthatóságához és az ökoszisztéma stabilitásához.

2.6.2. *Dendrobaena veneta* faj általános jellemzése

A *Dendrobaena veneta veneta* széles körben elterjedt, nagy morfológiai variabilitással rendelkező peregrinus faj (1. ábra). Valószínűleg kelet-mediterrán eredetű (Perel, 1979), Közép- és Nyugat-Európában leginkább komposztokban és trágyadombokon lehetett megtalálni.

Ökológiai szempontból a *Dendrobaena veneta veneta* a vermikomposztálásra alkalmas férgek egyike, de kokonjai csak 1-2 juvenilt tartalmaznak, és a nettó szaporodási arány meglehetősen alacsony, 1,4 juvenil./hét. A keltetési idő 21-31 nap, az érés 82-99 napot vesz igénybe. A faj várható élettartama körülbelül 3,2 év. A napi fogyasztási arány és öntéstermelés 45,5 mg szárazanyag 1 g élőszúlyra vetítve (Zicsi, 1974a).

Elterjedését tekintve a fajt Európa-szerte széles körben betelepítették, különösen az utóbbi évtizedekben a vermikomposztáló iparral kapcsolatban. Elterjedése Magyarországon Budapest, Budatétény; Érd; Sasad; Gödöllő környékére koncentrálódik (Csuzdi & Zicsi, 2003).

A földigilisztákat már évek óta használják a vermikomposztálásban. Ez a szerves hulladék feldolgozását lehetővé tevő környezetbarát biotechnológia egyik példája. A szerves hulladék lebontása a földigiliszták koncentrált populációjának részvételével történik. Ez a

folyamat az ember által irányítható, és termékei mind a vermikomposzt - egy teljes értékű műtrágya -, mind a földigilisztá test biomasszája (Adhikary, 2012; Kostecka et al. 2018). A vermikomposztálási folyamat sikere számos tényezőtől függ. Mivel a hatékonysága nagymértékben függ például a megfelelő földigilisztafaj kiválasztásától, világszerte számos tanulmányt folytatnak az erre a célra leginkább alkalmas *Lumbricidae* fajok összehasonlítására és elkülönítésére (Adhikary, 2012; Lowe et al. 2014). Az *Eisenia fetida* faj különösen érdekes, mivel magas szaporodási rátája és a szerves hulladék gyors feldolgozási sebessége miatt hatékonyan alkalmazható a vermikomposztálás során. Számos szerző által vizsgált faj, mind a laboratóriumi körülmények közötti tartás, mind a vermikulturális körülmények között való tartás szempontjából. A *Dendrobaena veneta* (Rosa) egy viszonylag nemrégiben az antropogén környezetbe behozott faj, ezért ez a földigilisztá faj egy ideje számos későbbi vizsgálat tárgya (Podolak et al. 2020).



1. ábra: A kísérletben használt *Dendrobaena veneta* faj (Forrás: Czinkóczi Attila, 2023)

2.7. Földigiliszták szerepe a mikroorganizmusok terjesztésében

A földigiliszták számos összetett kapcsolatot tartanak fenn a mikroorganizmusokkal. A mikroorganizmusoktól, mint fő tápanyagforrástól függenek, és elősegítik a bomló szerves anyag mikrobiális aktivitását azáltal, hogy feldarabolják és mikroorganizmusokkal beoltják azt, valamint széles körben terjesztik a mikroorganizmusokat a talajban és az erdei alomban. A földigiliszták tápcsatornáiban található mikroorganizmusok általában ugyanazok a fajok, amelyek a földigilisztákat körülvevő talajban élnek és működnek. A földigiliszták

baktériumközössége a környező talajban található bizonyos anyagok vagy baktériumok jelenléte miatt állandó változásnak van kitéve, melyhez adaptálódniuk szükséges. Ez azt mutatja, hogy a földigiliszta bélrendszerének mikroflóráját a környezet alakítja (De Menezes et al. 2018). A földigiliszták nyálkája serkentheti a proteobaktériumok növekedését, míg a lebomlás során a firmicute baktériumokat befolyásolja. Mára már jól ismert, hogy a földigiliszta ürülék sokkal több mikroorganizmust tartalmaz, mint az ömlesztett talaj. A földigiliszta ürülék sokkal nagyobb arányban tartalmaz gombákat, *Actinomyces* baktériumokat és más baktériumokat is, emellett magasabb enzimaktivitást mutat, mint a környező talaj. A különböző földigiliszta-fajok ürülékei fajonként és a bélrendszerükben rejlő tulajdonságok alapján eltérő tulajdonságokkal rendelkeznek. A földigiliszták szerepet játszanak a mikroorganizmusok elterjedésében azáltal, hogy egy adott táplálékforrásból egy adott helyen felveszik, majd egy új helyen lenyelik őket, valamint azáltal, hogy a testükhöz tapadó mikrobákat szállítják, és olyan környezeti feltételeket teremtenek, amelyek lehetővé teszik a könnyebb szállításukat. Ez a tulajdonság a gombák esetében is megmutatkozik, például a földigiliszták segítik a mikorrhiza kialakulását egy növényközösségen belül (Edwards & Arancon , 2022).

A földigiliszták emésztőrendszere a garatból, a nyelőcsőből és a köldökből ("befogadó zóna") áll, amelyet egy enzimeket kiválasztó elülső bél és egy tápanyagokat felszívó hátsó bél követ. Az emésztőrendszeren keresztül történő haladás során a mikroorganizmusok száma drámaian, akár 1000-szeresére is megnövekszik. Számos kutatás alátámasztotta, hogy a mikroorganizmusok táplálékot biztosítanak a földigiliszták számára. A baktériumok kisebb jelentőséggel bírnak a táplálkozásban, az algák mérsékelt jelentőségűek; az egysejtűek és a gombák a tápanyagok fő forrásai. A steril körülmények között termesztett férgek bizonyos baktériumok, gombák és egysejtűek egyedi tenyészetin élnek, de a legjobban a mikroorganizmusok különböző keverékein fejlődnek (Edwards & Fletcher, 1988).

A földigiliszták és a mikroorganizmusok közötti szimbiotikus kölcsönhatások fokozatosan lebontják és feldarabolják a szerves anyagokat, és végül vízstabil aggregátumokba építik be azokat. A földigiliszták öntvényeiben és a földigiliszta-üregek bélésében lévő ásványi tápanyagok a növények számára könnyen hozzáférhető formában vannak jelen. Bizonyított, hogy a földigiliszták és a mikroorganizmusok közötti kölcsönhatás nemcsak ezeket a rendelkezésre álló tápanyagokat biztosítja, hanem közvetve más módon is serkenti a növények növekedését (De Menezes et al. 2018).

Vannak olyan tanulmányok, amelyek azt mutatják, hogy a földigiliszták képesek a patogén mikroorganizmusok szétszórására, és befolyásolják a gombaspórák és a fonálférgek cisztáinak életképességét. A földigiliszták olyan mikroorganizmusokkal állnak kölcsönhatásban, amelyek csökkenthetik vagy növelhetik a növényi kórokozók támadását (Edwards & Fletcher, 1988).

A mikroorganizmusok széles skálája, beleértve a baktériumokat, algákat, protozoákat, *Actinomycetes*-eket, gombákat és még fonálférgeket is, a földigiliszta bélrendszerének teljes hosszában megtalálható. Bassalik (1913) például több mint 50 baktériumfajról számolt be a földigiliszta bélrendszeréből. A bélben található mikrobafajok általában nagyon hasonlóak a környező talajban vagy szerves anyagban található mikrobákhoz, amelyekkel a földigiliszták táplálkoznak (Atlavinyte & Pociene, 1973). Ez egyértelmű közvetett bizonyíték arra, hogy a földigiliszták függenek a mikroorganizmusoktól a táplálékszerzésben; ha a mikroorganizmusokat a táplálék megemésztésére használnák, akkor a bélben található fajok valószínűleg eltérnének a környező talajban található fajoktól. A legtöbb mikroorganizmusfaj száma drámaian megnő a bélben való áthaladás során. Stockli (1928) a baktériumok és *Actinomycetes*-ek összlétszámának nagymértékű növekedéséről számolt be. Hasonlóképpen Ponomareva (1953) azt találta, hogy az *Actinomycetes*-ek, a pigmentált baktériumok és a *Bacillus cereus* csoportba tartozó egyéb baktériumok száma növekszik, ahogy a táplálék visszafelé halad a földigiliszta bélrendszerében. A földigiliszta táplálkozásának egyik legrészletesebb tanulmánya a mai napig Parle (1963) munkája, aki szintén azt állapította meg, hogy az *Actinomycetes*-ek és baktériumok a *L. terrestris*, az *A. caliginosa* és az *A. longa* bélrendszerén keresztül haladva szaporodnak, és a hátsó bélben körülbelül 1000-szer több ilyen organizmus található, mint az elülső bélben (Edwards & Fletcher, 1988).

Viszonylag kevés kísérleti tanulmány született a földigiliszták jelentőségéről a mikroorganizmusok szétszóródásában. Nem látszik kétségesnek, hogy rendkívül fontos szerepet kell játszaniuk ebben a szétszóródásban, mivel számos jelentés szól a földigiliszták öntvényeiben található mikroorganizmusok nagy számáról. Valószínűleg a földigiliszták azon fajai, mint például a *L. terrestris* és az *Allolobophora longa*, amelyek viszonylag állandó üregekkel rendelkeznek a talajban, kevésbé fontosak a mikroorganizmusok szétszóródásában, mint azok a fajok, mint például az *A. caliginosa* és az *A. chlorotica*, amelyek folyamatosan mozognak a talaj felső rétegeiben. Hutchinson és Kamel (1956) ezt kísérletileg bizonyította, amikor kimutatta, hogy a gombák sokkal gyorsabban terjednek a talajban, ha földigiliszták vannak jelen (Edwards & Fletcher, 1988; Edwards & Arancon, 2022).

2.7.1. A hasznos mikroorganizmusok elterjedése

A földigiliszták valószínűleg egyik legfontosabb tevékenysége az, hogy a szerves anyagot a belükön keresztül haladva feldarabolják, és e folyamat során az anyagot a mikroorganizmusok széles spektrumának teszik hozzáférhetővé, amelyek a megnövekedett felületen könnyen elszaporodhatnak. E kölcsönhatás egyetemesége és az ilyen kölcsönhatások számszerűsítésének nehézsége miatt kevés kísérleti bizonyíték áll rendelkezésre a jelentőségére vonatkozóan. Azonban jó bizonyíték van arra, hogy a földigiliszták fontos szerepet játszanak a vezikuláris- arbuskuláris mikorrhizák szaporítóanyagainak terjesztésében (Rabatin & Stinner, 1988).

2.7.2. A káros mikroorganizmusok szétszóródása

Sok vastag és vékony falú gombaspóra csak kis mértékben veszíti el életképességét a földigiliszták bélrendszerén való áthaladás során, például a törpegomba (*Tiŕftin controversa*) spórái semmit sem veszítettek életképességükből a férgekben való áthaladás során. A földigiliszták olyan káros gombák spóráit is szétszórhatják, mint a *Pythium* és a *Fusarium* (Edwards & Fletcher, 1988).

2.7.3. *Bacillus thuringiensis* és a földigiliszták közti kölcsönhatás

A *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* készítményeket biológiai peszticidként használják számos fogékony *Lepidoptera* fajok elleni specifikus védekezésre. Ez a rovarok osztályán belüli specifitás, valamint a gerincesekre gyakorolt rendkívül alacsony toxicitás teszi az ilyen készítményeket a fogékony kártevő rovarok elleni védekezésre alkalmazhatóvá. Jól ismert, hogy a rovarok mellett számos más gerinctelen állat is fontos szerepet játszik a legtöbb ökoszisztémában. A redukáló szervezetek csoportjából az egyik csoport a földigiliszták, amelyek a legtöbb talajökoszisztémában, különösen az erdőkben, nagy jelentőséggel bírnak. Ezért nagyon kíváncsi, hogy az általunk használt növényvédőszer ne veszélyeztessék a földigilisztákat. Egy kísérletben kimutatták, hogy a *B. thuringiensis* nagy dózisa halálosak a földigilisztákra, a *Lumbricus terrestris*-re. Laboratóriumi kísérletekben olyan talajba helyezték a gilisztákat, amelyhez 1-10% *B. thuringiensis*-t (Thuricide 30B[®] vagy 50B[®]) keverték, és 9 wk alatt 100%-os pusztulást tapasztaltak. Benz és Altwegg (1975) által használt *B. thuringiensis* koncentrációk azonban rendkívül magasak voltak, azaz 104-105-ször magasabbak, mint ami a talajban szokásos szabadföldi kijuttatás után előfordulna (Benz & Altwegg, 1975; Edwards & Arancon, 2022).

2.7.4. *Pseudomonas* spp. és a földigiliszták közti kölcsönhatás

A talajban élő mikroorganizmusok, a földigiliszták és a növények közötti összetett kölcsönhatások képesek megváltoztatni a növények növekedését és fejlődését. A *Pseudomonas trivialis* széles spektrumú növény-növekedést elősegítő rizobaktérium (PGPR), indol-3-ecetsav (IAA) termelésének, sziderofór termelésének, 1-aminociklopropán-1-karboxilát (ACC) deamináz aktivitásának és foszfát-szolubilizációs tulajdonságainak köszönhetően. Vizsgálatokat végeztek a *P. trivialis* koncentrációjának változásait figyelve, földigiliszták (*Allolobophora caliginosa*) jelenlétében vagy hiányában és hogy a retek (*Raphanus sativus*) növények növekedésére és fejlődésére milyen hatást gyakorol (Van Groenigen et al. 2014).

A kísérlet három oltási koncentráció hatását vizsgálta földigiliszták jelenlétében vagy hiányában a retek növekedésére és fejlődésére. Megmutatta, hogy a földigiliszták fokozzák a *P. trivialis* pozitív hatását a növények növekedésére. A *P. trivialis* az inokulum méretének növelésével serkentő hatást fejtett ki a növény növekedésére. A *P. trivialis* jelenlétében a földigiliszták a föld feletti biomassa és az összes biomassa jelentős növekedését idézték elő, de a föld alatt nem volt hatásuk. A földigiliszták pozitív hatása a *P. trivialis* inokulum koncentrációjának növekedésével nőtt. A *P. trivialis* alacsony koncentrációjával beoltott retek-növények és földigilisztával kezelt növényekhez képest a gyökérhossz csökkenéséhez vezettek, de a föld feletti magasságra nem volt hatásuk. Ezért ez a *P. trivialis* törzs nagyobb mennyiségben PGPR a retek számára, de kisebb mennyiségben negatív hatással van az IAA szintjére. A földigiliszták és a *P. trivialis* szinergikus hatása magasabb baktériumszámnál - ha együttesen alkalmazzák - fokozza a *R. sativus* növekedésére és fejlődésére gyakorolt serkentő hatást. A földigiliszták jelenlétében 10⁸ CFU/ml volt a *P. trivialis* küszöbdózisa, amelynél és amely felett pozitív hatás jelentkezik az *R. sativus* növekedésére (Abd El-Aziz & Bashandy, 2019).

2.7.5. *Trichoderma* spp. és a földigiliszták közti kölcsönhatás

A gombák és a földigiliszták a talajközösségek fontos tagjai, és kölcsönhatásaik feltételezhetően jelentősen befolyásolják a talajban zajló mikrobiális közvetítésű folyamatokat. Bár e kölcsönhatások fontossága széles körben elfogadott, mégis kevésbé tanulmányozták őket, és a rendelkezésre álló információk részben ellentmondásosak (Brown, 1995). Több szerző is felvetette, hogy a gombák a földigiliszták táplálékának fontos összetevői (Tiwari et al. 1990). Kimutatták, hogy a földigiliszták előnyben részesítik az egyes gombafajok által kolonizált táplálék-szubsztrátokat, és a gombák bélsárral történő átjárása során károsodást szenvednek

(Marfenina & Ishchenko, 1997). Kimutatták, hogy még a gerinctelenek által végzett szelektív legeltetés alacsony szintje is jelentősen megváltoztatja a gombák eloszlását és szukcesszióját az almon (Newell, 1984). Ezért valószínű, hogy a földigiliszták megváltoztatják a talajban lévő gombaközösségek összetételét és a bomló alomban lévő gombák szukcesszióját. A földigilisztáknak a talajban lévő gombaközösségek szerkezetére gyakorolt hatásáról azonban csak töredékes információk állnak rendelkezésre. A *Trichoderma spp.* fajokat számos gombafaj elutasítja, mint tápláléksubsztrátot (Shaw, 1992), de ez a minta nem következetes a földigiliszták esetében. Néhány kísérletben kimutatták, hogy a *Mucorales*-t a *Trichoderma spp.* előnyben részesíti, ellenben Moody és munkatársai (1995) a *M. hiemalis* és a *Trichoderma sp.* hasonló ízletességéről számolt be a *L. terrestris* és két másik földigiliszta faj számára. Emellett a *Trichoderma sp.* és a *M. hiemalis* spóráinak életképességét a bélben való átjárás erősen csökkenti (99, illetve 90%-kal), feltehetően a bélnedvek hatására (Tiunov & Scheu, 2000; Sebayang et al. 2022).

2.7.6. *Metarhizium spp.* és a földigiliszták közti kölcsönhatás

A földigiliszták (*Annelida: Oligochaeta*) a legdominánsabb talajszervezetek biomasszája, amelyek mind a természetes, mind a mezőgazdasági területeken általánosan jelen vannak, tág értelemben véve hasznos talajszervezeteknek tekinthetők. Egyrészt a földigilisztákat „ökoszisztéma mérnököknek” nevezik, köszönhetően táplálkozási tevékenységüknek és a talajban való mozgási képességüknek, ami fokozza a szerves anyag forgalmát, és kedvez a talaj szerkezetének, levegőztetésének és termékenységének (Wall, 2012). Emellett a földigiliszták bélrendszere olyan baktériumokat tartalmaz, amelyek módosíthatják a talaj tulajdonságait, amelyek serkenténének bizonyos növényi funkciókat, és megváltoztatnák a mikro- és mezofauna közösségeket. Így a földigiliszták hozzájárulhatnak a növényparazita fonálférgek számának csökkentéséhez, és fokozhatják más hasznos talajszervezetek, például az entomopatogén fonálférgek és gombák mozgását (Shapiro-Ilan & Brown, 2013).

A földigilisztákat fűróképességüktől, táplálkozási aktivitásuktól és oxigénellátottságuktól függően három fő csoportba sorolják: epigeikus, anexikus és endogeikus (Sapkota et al. 2020). Összességében az epigeikus fajok, mint például az *Eisenia fetida* vagy a *Perionyx excavatus* a talaj felszínén, az avarban élnek, és főként bomló növényi anyaggal táplálkoznak. Ezzel szemben a 2-3 méter mélységet elérő függőleges járatokban való mozgás jellemzi az anexikus fajokat, mint a *Lumbricus terrestris*. Végül az endogeikus fajok véletlenszerűen mozognak a talajban, vízszintes járatokat készítve a talaj felső részén. Az

entomopatogén gombák (EPF), például a *Beauveria bassiana* és a *Metarhizium anisopliae* fajok 4-5 nap alatt elpusztítják a gazdaszervezetet (Roy et al. 2010). Az entomopatogén gombák az ízeltlábú gazdák parazitáiként és szaprofitaként is működhet. Amikor az EPF spórák érintkeznek a gazdaszervezettel és behatolnak a kutikulába, az EPF parazita fázisban van. A rovar testén belül a gomba specifikus metabolitokat és antibiotikumokat termel, hogy elpusztítsa a rovar, illetve megakadályozza a nemkívánatos szervezetek elszaporodását. Amint a rovar elpusztul, az EPF átvált a szaprofita fázisba, a szaporító struktúrákból aktív hifális növekedésbe kezd, és légi micéliumokat hoz létre a szétszóródáshoz, hogy újraindítsa az életciklust (Chelkha et al. 2021).

Kevés tanulmány vizsgálta a földigiliszták és az entomopatogén szervezetek közötti kölcsönhatást a talajban. Az első ilyen jellegű tanulmányok a földigiliszták közvetett hatását értékelték az EPF-k terjedésére és biológiai védekezési potenciáljára, elsősorban a talaj keveredési képességén alapulva, miközben a földigiliszták táplálkozás közben mozognak. Ezen túlmenően a földigiliszták bőrkiválasztása (CEx) a földigiliszta talajban való mozgása során az epidermisz mirigysejtjeinek mikropórusaiból választódik ki, és tartalmaz a vizeletpórusokból ürülő vizeletet, a coelomikus pórusokból ürülő coelomikus folyadékot és az epidermisz mirigysejtjeinek mikropórusaiból ürülő nyálkát is (Santocki et al. 2016). A nagy stresszhatás alatt termelődő coelomikus folyadék összetétele fajspecifikus, és immunsejteket és egyéb antibiotikus jellegű vegyületeket tartalmaz, amelyek alapvető szerepet játszanak a földigiliszták antibakteriális immunrendszerében. Ezek a vegyületek hatással lehetnek a környező szervezetekre, például a fonálférgekre és a gombákra. Például a *Dendrobaena veneta* és az *E. fetida* CExe csökkentette a *Fusarium oxysporum* gomba növekedését, az *E. fetida* CExe pedig képes volt elpusztítani és csökkenteni a *Caenorhabditis elegans* szaporodási képességét (Chelkha et al. 2021).

3. A VIZSGÁLATOK MÓDSZEREI

3.1. Vizsgálati terület

A kísérletet a Magyar Agrár- és Élettudomány Egyetem (MATE), Szent István campus-án, Gödöllőn végeztük. A kísérlet három részből állt, ami 2023 októbere és 2024 júliusa között folyt. Minden része zárt kísérleti területen folyt, a MATE Integrált Növényvédelmi Intézetének, valamint Talajtani Intézetének laboratóriumaiban. Egy földigilisztá fajt használtunk a vizsgálat során (*Dendrobaena veneta*). A kísérletet úgy állítottuk be a földigiliszták számára, hogy a környezeti körülmények ne térjenek el a természetben tapasztalhatóktól.

3.2. A kísérlet felépítése

A kísérletben használt közeg általános palántaföld volt (Sandis® palántaföld), mely a következő tulajdonságokkal rendelkezett: hatóanyag tartalom: N> 0,3%, P₂O₅> 0,1%, K₂O> 0,1%; szerves anyag tartalom> 40%; pH: 6,8±0,5. A vizsgálat során alkalmazott mikroorganizmusok a *Pseudomonas fluorescens*, a *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, a *Metarhizium anisopliae* és a *Trichoderma asperellum* fajok voltak. A *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* faj izolálásához Dipel® készítményt használtunk melynek hatóanyaga a *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*: ABTS-351 törzs. A *Trichoderma asperellum* faj izolálásához Trifender® készítményt használtunk melynek hatóanyaga a *Trichoderma asperellum* T1-es gomba törzs. A *Pseudomonas fluorescens* fajt őszi búza gyökeréről izoláltuk, majd az Integrált Növényvédelmi Intézet laboratóriumában tiszta tenyészetet készítettünk belőle, míg a *Metarhizium anisopliae* fajt az Integrált Növényvédelmi Intézet saját gyűjteményéből tenyésztettük ki új táptalajokon. A kísérletben *Dendrobaena veneta* kifejlett földigilisztá fajt használtunk. A földigilisztákat egy karácsondi gazdától, Czinkóczi Attilától szereztük be, aki a faj tenyésztésével és értékesítésével foglalkozik. Amíg a földigilisztákat fel nem használtuk, hűvös (15 °C) és sötét helyen tároltuk a gazdától kapott gilisztahumusz közegben. Közvetlen felhasználásuk előtt pedig desztillált vízzel öblítettük le a földigilisztákat.

Előkészítettük a szükséges Nutrient-, *Trichoderma* szelektív-, *Metarhizium* szelektív-, és King's B táptalajokat, amelyeket Erlenmeyer-lombikban készítettünk el, majd autoklávban sterilizáltuk 121 °C-on, 15 percig. A sterilizált táptalajokat 9 cm átmérőjű Petri-csészékbe öntöttük ki. A kész táptalajokon szélesztést végeztünk, melyhez a laboratórium saját gyűjteményéből kaptunk anyagot és tiszta tenyészetet készítettünk, kivéve a *Pseudomonas* faj izolálás esetében.

Pseudomonas fluorescens izolálása: A laboratóriumi vizsgálatokhoz a rizobaktériumokat egy művelés alatt álló tábláról, őszi búza (*Triticum aestivum*) gyökereiről gyűjtöttük. A gyökérmintákat a lehető legrövidebb időn belül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Integrált Növényvédelmi Intézetének laboratóriumába szállítottuk, ahol megtisztítottuk őket a rájuk tapadt felesleges talajtól. A rizoszférából vett gyökérmintákat szintén autoklávban sterilizált vízzel tisztítottuk meg. A steril eszközök használatával a gyökérdarabokat 8-10 mm-es szegmensekre vágtuk, amelyeket ezután a King's B táptalajra helyeztünk. A táptalajon növekedésnek induló baktériumtelepeket szobahőmérsékleten (20-25 °C) inkubáltuk, majd naponta ellenőriztük őket. Az UV megvilágítás segítségével vizsgáltuk, hogy mely gyökérszegmensekből származó telepek mutatnak fluoreszcenciát. A fluoreszkáló telepekből további izolálással tiszta tenyészeteket állítottunk elő a kísérlet későbbi lépéseihez.

A King's B táptalaj összetevői 1000 ml desztillált vízhez:

- Pepton: 20 g
- K_2HPO_4 : 2,5 g
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 6 g
- Glicerín: 15 ml
- Agar: 20 g

A Nutrient táptalaj összetevői 1000 ml desztillált vízhez:

- Nutrient agar: 23 g

A Trichoderma szelektív táptalaj összetevői 1000 ml desztillált vízhez:

- Kloramfenikol: 20 ml/l
- Bengál rózsza: 10 ml/l
- Agar: 10 g
- Paradicsomsűrítő: 1 doboz (140 g)

A Metarhizium szelektív táptalaj összetevői 500 ml desztillált vízhez:

- Szója pepton: 5 g
- Glükóz: 5 g
- Agar: 7 g
- Kloramfenikol törzsoldat: 4 ml
- Cyclohexidim törzsoldat: 20 ml

A táptalajon növekedésnek induló gomba-és baktériumtelepeket szobahőmérsékleten (20-25 °C) inkubáltuk, majd naponta ellenőriztük őket.

A kísérlet első lépéseként megmértük a földigiliszták tömegét és behelyeztük a palántaföldet tartalmazó műanyag dobozokba. A dobozok 850 ml-ek voltak, aljukat és tetejüket kilyukasztottuk biztosítva a szellőzöttséget és a nedvesség szivárgásának lehetőségét. Minden dobozba 5-5 földigilisztát helyeztünk. Ezek után a már kész tiszta tenyészetekből szuszpenziót (125 ml) készítettünk tízszeres hígításban felületaktív anyag (triton) hozzáadásával. Ennél a fázisnál Bürker-kamra segítségével spóraszámlálást végeztünk. Ezt követően a törzssuszpenziókkal kezeltük a földigilisztás közeget.

Öt féle kezelést állítottunk be. Volt egy kontrol (K), ami csak a talaj közeget tartalmazta; egy kontrol közeg, amikben kezeletlen földigiliszták voltak (K+G), egy *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* szuszpenzióval kezelt, egy *Metarhizium anisopliae* szuszpenzióval kezelt egy *Pseudomonas fluorescens* szuszpenzióval kezelt és *Trichoderma asperellum* szuszpenzióval kezelt, melyekben szintén 5-5 földigilisztát volt. A közeget vízzel permeteztük és hetente megismételtük a vízzel történő öntözést. A dobozokat egy fitotronba helyeztük, mely 17 °C-os hőmérsékletre és 58%-os páratartalomra lett beállítva.

6 hét után megbontottuk a kísérletet. Az öt ismételtségből három doboz földigilisztáit megtisztítottuk és friss palántaföld közegbe helyeztük mind a kontrolt mind a kezelt földigilisztákat (2. ábra). Azonban a kezelt közegek földigilisztáit nem kezeltük felül további szuszpenzióval, mert a kísérlet további folytatása arra a kérdésre terjedt ki, hogy a már kezelt földigiliszták tovább tudják-e adni, hordozni tudják-e magukkal a mikroorganizmusokat.



2. ábra: Közeg átvizsgálása, földigiliszták mérése és friss közegbe tétele (Forrás: Saját, 2023)

Az eredeti 5 ismételtsből kettőt arra használtunk fel, hogy megvizsgáljuk, megtalálhatóak-e a mikroorganizmusok a földigiliszták ürülékében. Ehhez a földigilisztákat kivettük a közegből, megtisztítottuk és szűrő papírral kibélelt nagyméretű, üveg Petri-csészékbe helyeztük 24 órára a fitotronba. 24 óra letelte után az ürülékeket a megfelelő táptalajokra helyeztük, szobahőmérsékleten inkubáltuk és ellenőriztük, számoltuk a kialakuló/ kialakult telepek számát (3. ábra).



3. ábra: Földigiliszták ürülék táptalajokra helyezése steril box-ban (Forrás: Saját, 2023)

A friss közegbe helyezett földigilisztákat szintén 6 hét után vizsgáltuk tovább. Szintén a korábban említett metodikának megfelelően. A földigilisztákat megtisztítottuk, szűrőpapírral kibélelt nagyméretű Petri-csészékbe tettük és 24 órára a fitotronba helyeztük. Az ürülékeket szintén a megfelelő táptalajra helyeztük és inkubáltuk, a kialakult telepek számát pedig nyomon követtük és rögzítettük. A mikrobiológiai mérések befejeztével minden talajminta kémiai tulajdonságainak megvizsgálására került sor.

A kísérlet részét képezte még egy dózis kísérlet is, mely során két eltérő koncentrációjú szuszpenziót készítettünk 2 fajból (*Trichoderma asperellum*: 10^7 , 10^5 ; *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*: 10^8 , 10^6). Egy kisebb méretű (200 ml) műanyag pohárba helyeztünk 100 ml palántaföldet és 5-5 földigilisztát, valamint ezekkel a különböző koncentrációjú szuszpenziókkal kezeltük. A poharak tetejét agrotextillel fedtük le, szintén 6 héten keresztül öntöztük a közegét és vizsgáltuk a mortalitást. Hat hét után bontottuk a kísérletet és számoltuk meg az élő földigiliszták számát (4. ábra).



4. ábra: Talajközegek átvizsgálása dózis kísérlet során (Forrás: Saját, 2024)

3.3. Talajkémiai mérések

3.3.1. Talaj pH meghatározása

A talaj pH-vizsgálatát két módszerrel lehet elvégezni: elektrometriás és kolorimetriás módszerrel. Az elektrometriás módszernek a kolorimetriás módszerrel szemben az az előnye, hogy pontosabb eredményt ad, továbbá alkalmazható színes oldatokban is. Ennek megfelelően az elektrometriás módszert alkalmaztam a méréseim során.

A meghatározás alapelve: Az elektrometriás módszer lényege a pH direkt potenciometriás meghatározása üvegelektróddal, amely érzéketlen az oxidáló vagy redukáló hatásokra. A méréshez kalomel- vagy ezüst/ezüst-klorid referenciaelektrodokat használnak. A kombinált elektrodok praktikusak, mivel egyesítik az üvegelektrodot és a referenciaelektrodot. Kinhidron-elektrodot is alkalmaznak gyors reakcióideje miatt, főként pH 4-7 tartományban.

Vegyszerek, oldatok. Ionmentes vagy desztillált víz; kálium-klorid (KCl), at., mol/l-es oldata a pH (KCl) meghatározásához; pufferoldatok, pH-értékük: 3,0, 7,0, 9,0.

Szükséges eszközök. pH-mérő (pl. Universal pH-méter OP-204/1 Radelkis gyártmány); üvegelektród (pl. Radelkis OP 0808 P típus „törhetetlen” kombinált üvegelektród) (5. ábra).

A meghatározás menete. 1 : 2,5 talaj – víz arányú (a), illetve 1 : 2,5 talaj – 1 mol/l-es KCl arányú (b) szuszpenzióban határozzuk meg a pH-t.

Előkészítés: pH (H₂O) és (KCL) méréshez

1. Kémcsövekbe 12,5 cm³ desztillált vizet vagy 1 mol/l-el KCL oldatot adagolunk.

2. Kalibrált mérőeszközzel (például kanállal) 5 gramm talajmintát teszünk a desztillált vízbe vagy 1 mol/l-es KCL oldatba.
3. Alaposan felrázzuk a talajszuszpenziót, majd lefedjük.
4. Legalább 12 órát sav- és lúgmentes levegőjű helyiségben állni hagyjuk.

Mérés:

- A pH-mérők többségén az adott elektród pár mellett, megfelelő hőmérséklet beállításával, a mért elektródpotenciál-különbségnek megfelelő pH-érték közvetlenül leolvasható.



5. ábra: Talajminták pH vizsgálata (Forrás: Saját, 2024)

A műszer beállítása:

1. A pH-mérő készüléket bekapcsoljuk, majd a 3,0-as, 7,0-es és 9,0-es pH-jú pufferoldattal beállítjuk.
2. Beállítjuk a talajszuszpenzió hőmérsékletét.
3. Az üvegelektrodát minden mérés előtt desztillált vízzel leöblítjük, majd a talajszuszpenzióba merítjük.
4. A szuszpenzió pH-értékét 1-2 perces várakozás után leolvassuk a műszer skáláján, és a leolvasást kétszer megismétljük.

3.3.2. Talaj karbonát tartalmának meghatározása (Scheibler kalciméterrel):

A meghatározás alapelve: A talajhoz híg sósavat adunk, majd a keletkező szén-dioxid-gáz térfogatából számítjuk ki a CaCO_3 mennyiségét. A módszer nem különbözteti meg a talajban található eltérő karbonátformákat, tehát az összes karbonátot CaCO_3 -ban fejezzük ki.

Vegyszerek, oldatok:

- Sósav (HCl), technikai 10%-os oldat
- Nátrium-klorid (NaCl) oldat, 10%-os, a kalkiméter feltöltéséhez
- 5000 cm^3 NaCl-oldathoz 10 cm^3 0,5 mol/l-es H_2SO_4 oldatot és 2 cm^3 metilvörös indikátort adunk.

Szükséges felszerelés:

- Scheibler-féle kalkiméter, 10%-os NaCl oldattal feltöltve (6. ábra)

A meghatározás menete:

1. A vizsgálandó mintát vízzel és 10%-os HCl oldattal kezeljük.
2. A reakcióedénybe 1,0-10,0 g előkészített talajt mérünk gyorsmérleg segítségével a pezsgés intenzitásától függően.
3. A savtartó csövecskébe 15 cm^3 10%-os HCl oldatot mérünk.
4. A reakcióedényt gumidugóval lezárjuk, majd a készülék háromfuratú csapját kalibráljuk.
5. A reakciótérbe a 10%-os HCl oldatot öntjük a bemért talajra.
6. A CO_2 -fejlődés megindulásakor az U alakú csőben a zárófolyadék szintjét folyamatosan csökkentjük az összekötő csap segítségével.
7. A reakció befejezésekor a folyadéknívót a két csőben pontosan kiegyenlítjük, majd leolvassuk a fejlődött gáz térfogatát, a légnyomást és a hőmérsékletet.



6. ábra: Scheibler-féle kalkiméter használata a karbonáttartalom meghatározásához (Forrás: Saját, 2024)

Számítás: A talajok összes karbonát tartalmát CaCO_3 -%-ban kifejezve (A), a következő összefüggés szerint számítjuk.

$$A = \frac{m \cdot a \cdot 100}{g}$$

Ahol:

- m = a fejlődött CO_2 mennyisége cm^3 -ben
- a = a CO_2 1 cm^3 -ének megfelelő CaCO_3 mennyiség az észlelt hőmérsékleten és nyomáson grammban
- g = a bemért talaj tömege grammban (Buzás, 1988)

Ha a talaj CaCO_3 tartalma:

- 5%-nál alacsonyabb gyengén meszes
- 5-20% között közepesen meszes
- 20-30% között erősen meszes
- 30%-nál magasabb

3.3.3. Vezetőképesség meghatározása

Számos módszer létezik a talaj vízben oldódó összes sótartalmának mérésére. Az elért eredmények a módszertől és az alkalmazott talaj-víz aránytól függenek. Az összehasonlítás érdekében csak azonos módszerrel végzett vizsgálatok eredményei tekinthetők relevánsnak. A talaj összes sótartalmának gyors és egyszerű, félkvantitatív meghatározása a telített talajpép elektromos vezetőképességének mérésén alapul.

A módszer alapja: A talajpép elektromos vezetőképességét a képlékenységi felső határáig vízzel telített állapotban mérjük. A pép készítése során a talajban lévő sók oldódnak, és az oldatban ionjaikra disszociálnak. Az oldatban lévő ionok mennyiségét a disszociáció mértéke és az oldott anyag koncentrációja határozza meg.

Szükséges eszközök: Konduktométer (pl. OK-02/1 Radelkis), ismert kapacitású (pl. 0,25 cm^3) merülőelektrod, vagy erre a célra kifejlesztett sómérő (pl. MTA TAKI gyártmány).

A meghatározás menete: A megfelelően előkészített (légszáraz, 2 mm-es szitán átengedett) talajmintából víz hozzáadásával képlékeny pépet készítünk. Az összes sótartalom meghatározásához az Arany-féle kötöttségi szám (K_A) vagy a telítési százalék (SP) meghatározásához készített talajpépet használjuk. Az ismert kapacitású (pl. 0,25 cm^3) merülőelektrodot a talajpépbe helyezzük úgy, hogy az ne érjen az edény falához vagy aljához,

mert ez mérési hibát okozhat. Leolvassuk a talajpép ellenállását ohmban vagy vezetőképességét millisiemensben (mS), és megmérjük a pép hőmérsékletét. Sómérő alkalmazása esetén kövessük a készülék használati útmutatóját (7. ábra).



7. ábra: Talajminták rázatása a vezetőképesség meghatározásához (Forrás: Saját, 2024)

Számítás: Az oldatok vezetőképességét a fajlagos vezetőképesség határozza meg. Az ellenállásból a fajlagos vezetőképességet a következő képlettel számítjuk ki:

$$W=C/R$$

Ahol:

- W = az oldat fajlagos vezetőképesség ($\text{ohm}^{-1} \text{cm}^{-1}$)
- C = a mérőcella kapacitása (cm^{-1}).
- R = az oldat ellenállása (ohm).

A fajlagos vezetőképességet sótartalomra kell átszámítani.

3.3.4. Szervesanyag tartalom meghatározása CNS elemanalizátor segítségével

Az elemanalízis egy mennyiségi vizsgálat. Az elemanalizátorok más módszerekkel nehezen meghatározható makroelemek vizsgálatára alkalmasak; mint amilyen a C, N, S, O, H (8. ábra).

A mérés elve:

A mennyiségi analízis alapja a minta magas hőmérséklet feltárása $800\text{-}1200^\circ\text{C}$ közötti választható hőmérsékleten. A gáz halmazállapotú reakciótermékek keverékét a készülék komponenseire választja szét (tisztítást követően), majd ezután egy TCD (hővezetőképesség) detektorral meri. A detektor mérőjele alapján, a bemérési tömeg és a kalibrációs görbe

segítségével megtörténik a százalékos (%) elemtartalom értékek sorozatának kiszámítása és rögzítése.

Az eredmények talajtani szempontból történő hasznosítása:

Talajok szempontjából azok összes C és N tartalmára vonatkozó információkból (a szervesetlen alkotók arányának elkülönítése után) következtethetünk a talaj szervesanyagának összetételére: a leggyakrabban alkalmazott az ún. C/N arány mutatószám. A C/N arány nagyban függ a talaj szervesanyag készletétől.

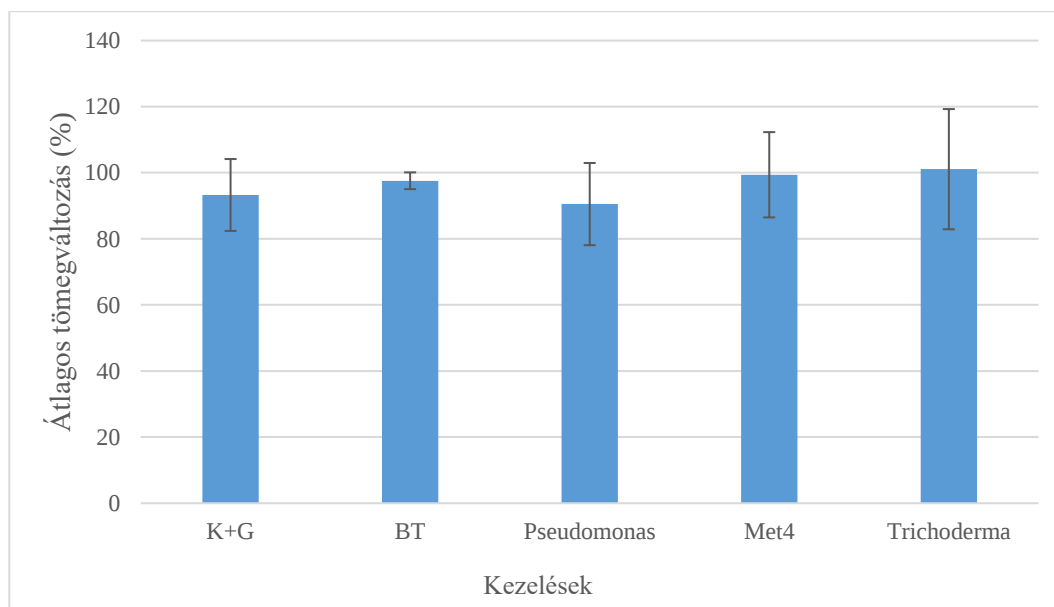


8. ábra: CNS elemanalizátor használata a szervesanyag tartalom meghatározásához (Forrás: Saját, 2024)

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. Biokontroll szervezetek hatása a földigiliszták tömegére

Az első kísérlet során megvizsgáltuk, hogyan változott a földigiliszták tömege a kezdeti adatokhoz képest. Az 5 ismétlés átlagaiból végeztünk egy százalékos értékelést, amit diagramon ábrázoltunk (9. ábra). A függőleges tengely mutatja be a földigiliszták tömegének változását százalékosan, a vízszintes tengelyen pedig a különböző kezelések figyelhetők meg. A kezeletlen földigilisztákhoz (K+G) képest látható, hogy a különböző biokontroll anyagokkal kezelt földigiliszták tömege emelkedő átlagot mutatott a *Pseudomonas fluorescens*-szel kezelt földigiliszták kivételével. A legnagyobb mértékű tömegnövekedést a *Trichoderma asperellum*-mal (Trichoderma), valamint a *Metarhizium anisopliae*-val (Met4) kezelt minták mutatták. Azonban a Met4 és a Trichoderma kezelés adatai is nagy szórást mutattak mely nagyobb eltérésre utal a mért tömegek között. A *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (BT) kezelésnél az eredmények közelebb álltak az átlag értékekhez, egyenletesebb volt, így a szórás mértéke sem annyira kimagasló. A második kísérlet során is elvégeztük ezt a vizsgálatot és az adatok más eredményt mutattak az elsőhöz képest. A második kísérletnél a kontroll földigilisztákhoz mérten csökkent a kezelt közegből származó földigiliszták tömege a kezdeti tömegükhöz képest.

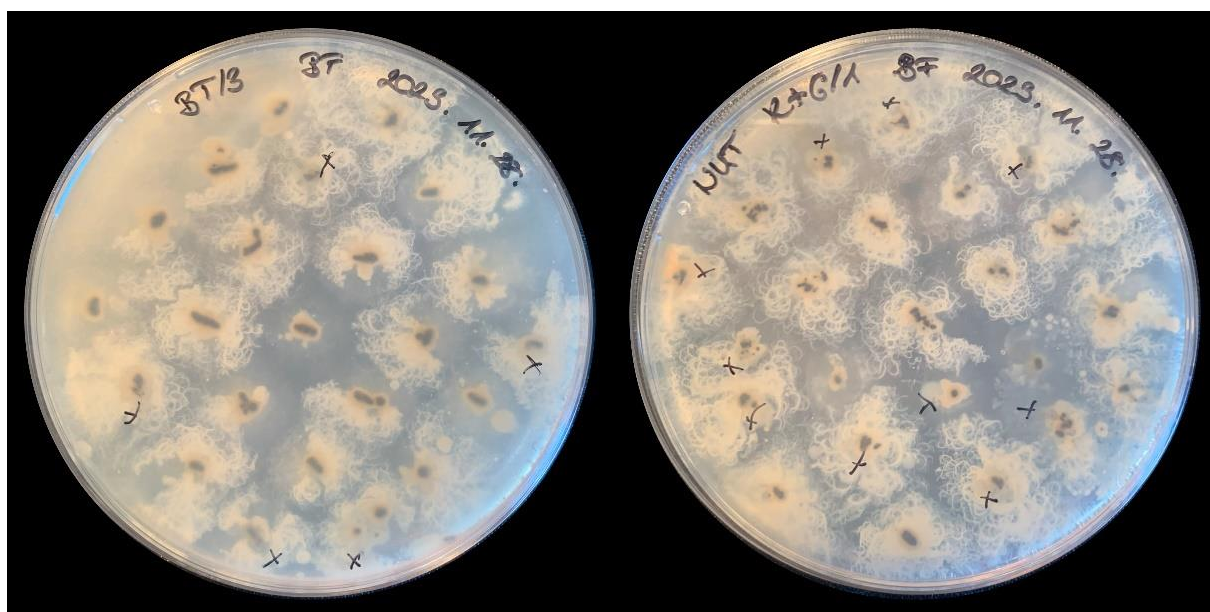


9. ábra: Kezeletlen és biokontroll anyagokkal kezelt földigiliszták tömegének változása %-ban kifejezve

4.2. Földigiliszták hatása a biokontroll szervezetekre

4.2.1. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* kezelés eredményei

A kísérlet további részében a földigiliszták ürülékében fellelhető biokontroll anyagok jelenlétét vizsgáltuk. Szelektív táptalajokon inkubáltuk a mintákat és feljegyeztük a telepek számát, és ezek alapján végeztünk további számításokat. A baktérium szuszpenziókkal kezelt földigiliszták ürülékéből származó adatoknál, sokkal kevésbé volt látványos a baktériumtelepek megjelenése a táptalajokon, mint a gombatelepek esetén. Az adatokból kiderült, hogy mind a kezeletlen (K+G) mind a kezelt (BT) földigilisztáürülék is mutatott *B. thuringiensis* var. *kurstaki* telepeket a táptalajon és a telepek fel is dúsultak közel egy hetes intervallumban. A szórás mértéke alacsony volt. Az eredmények nagyon érdekesen alakultak, miszerint a kezeletlen földigiliszták ürülékéből több telep jelent meg a táptalajokon, mint a kezelt földigiliszták ürülékéből (10. ábra).

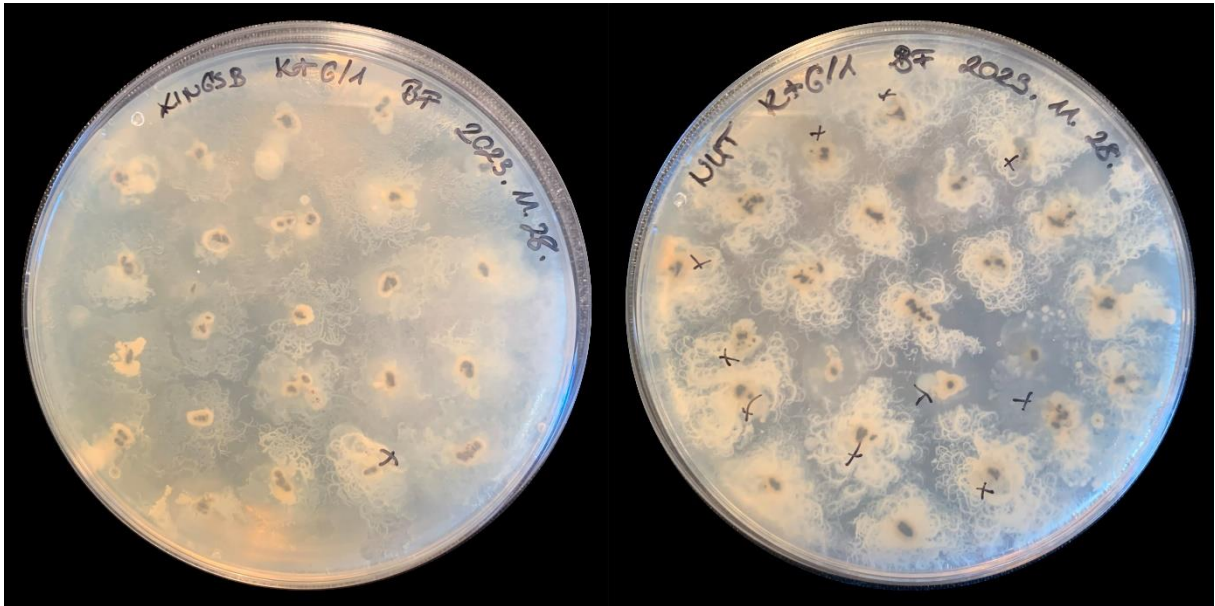


10. ábra: *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* telepek szelektív táptalajon, tízszeres hígításból
(Forrás: Saját, 2024)

4.2.2. *Pseudomonas fluorescens* kezelés eredményei

A *Pseudomonas fluorescens* szuszpenzióval kezelt (*Pseudomonas*) közegek esetén volt megfigyelhető a legkisebb mértékű növekedés a telepszám tekintetében a többi kezeléshez képest. Az adatok azt mutatták, hogy a kezelt közeg földigilisztáinak ürülékéből kevesebb telep alakult ki, mint a kezeletlen minták esetében és a minták szórás eredményei is rendkívül nagyok

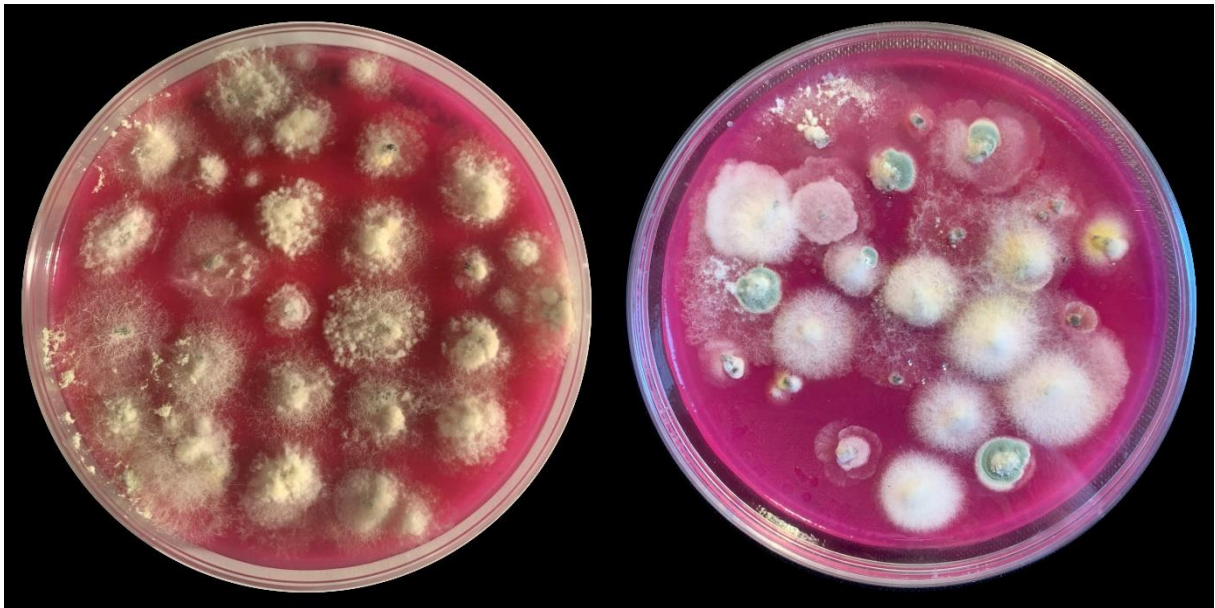
voltak. Általánosan elmondható, hogy a többi kezeléshez képest is a *P. fluorescens* esetén alakult ki számszerűen a legkevesebb telep. Ahogy az BT kezelésnél is megfigyelhető volt, a kontrol közeg földigilisztáinak ürülékében nagyobb arányban jelentek meg a fluoreszkáló telepek (X-jelölés), mint a kezelt minták esetén. Emellett megfigyeltük, hogy a King's B táptalajon a fluoreszkáló telepek mellett viszonylag nagy számban *Bacillus* telepek is nőttek az ürülékekből, ezzel szemben a Nutrient táptalajokon is nagy számban jelentek meg fluoreszkáló telepek a *Bacillus* telepek mellett (11. ábra).



11. ábra: *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* és *Pseudomonas fluorescens* telepek száma tízszeres hígításban (Forrás: Saját, 2024)

4.2.3. *Trichoderma asperellum* kezelés eredményei

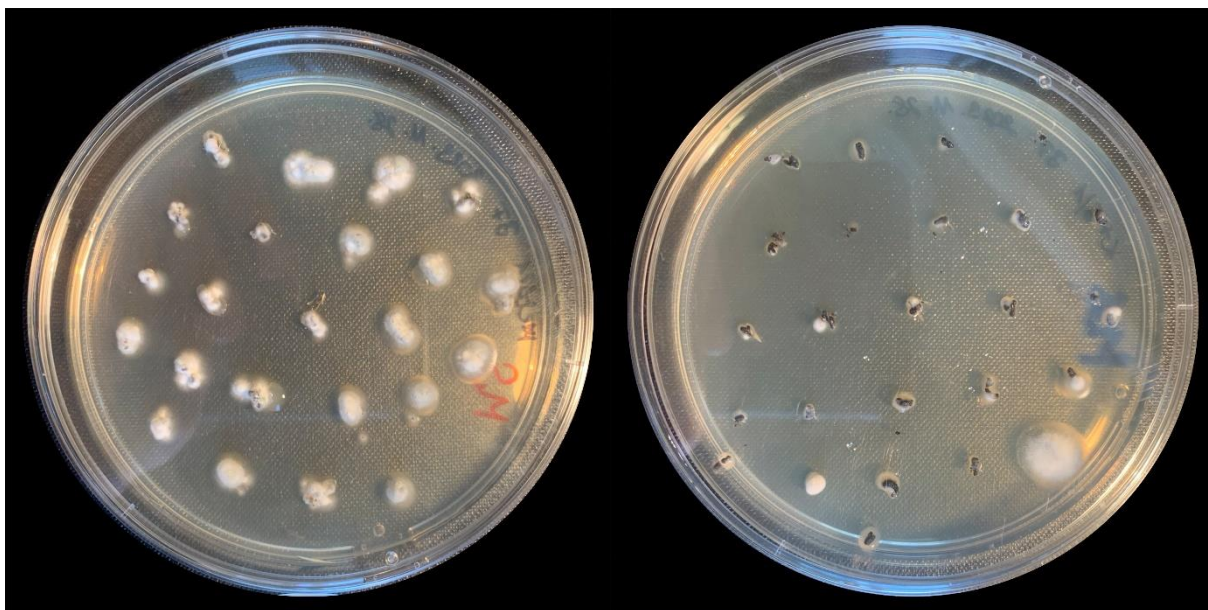
Két időpont között hasonlítottuk össze a kontroll földigiliszták ürülékéből, valamint a *Trichoderma asperellum* szuszpenzióval kezelt (*Trichoderma*) közegből származó ürülékekből kialakuló telepek számát szelektív táptalajon és ezekkel az adatokkal végeztünk további számításokat. Az eredményekből kiderült, hogy a két időpont között eltelt időben megnövekedtek a telepek számai, mind a kontroll (K+G) mind a kezelt minták esetén. Az is megfigyelhető volt, hogy a kezeletlen mintákból nem alakult ki annyi telep, mint a kezelt minták esetén (12. ábra). A kezelt minták esetén szinte az összes táptalajra helyezett ürülékmintából nőtt telep, míg a kezeletlen minták esetén ez a szám elég csekély volt. A szórás mértéke alacsony volt és szignifikánsan eltért a kontroll minta a kezelt mintától.



12. ábra: *Trichoderma asperellum* telepek (Trichoderma és K+G kezelés) szelektív táptalajon, tízszeres hígításból (Forrás: Saját, 2024)

4.2.4. *Metarhizium anisopliae* kezelés eredményei

A *Metarhizium anisopliae* (Met4) és a kezeletlen (K+G) földigilisztá ürülékekből származó adatok is közel hasonló tendenciát mutatnak, mint a *T. asperellum*-mal kezeltetek esetén. Az adatokból kiderült, hogy a kezeletlen mintákból származó telepek száma alacsonyabb volt, mint a kezelt mintáké (13. ábra). Az eredmények alapján elmondható, hogy a két időpont között eltelt idő alatt a kezeletlen és a kezelt telepek számában sem volt tapasztalható növekedés vagy csak nagyon kis mértékben. A kontroll minta valamint a kezelt minta között szignifikáns eltérés volt. A szórásból származó adatok ennél a kezelésnél következetesebb eredményt mutatnak, a szórás kisebb, a többi biokontroll kezelést figyelembe véve.



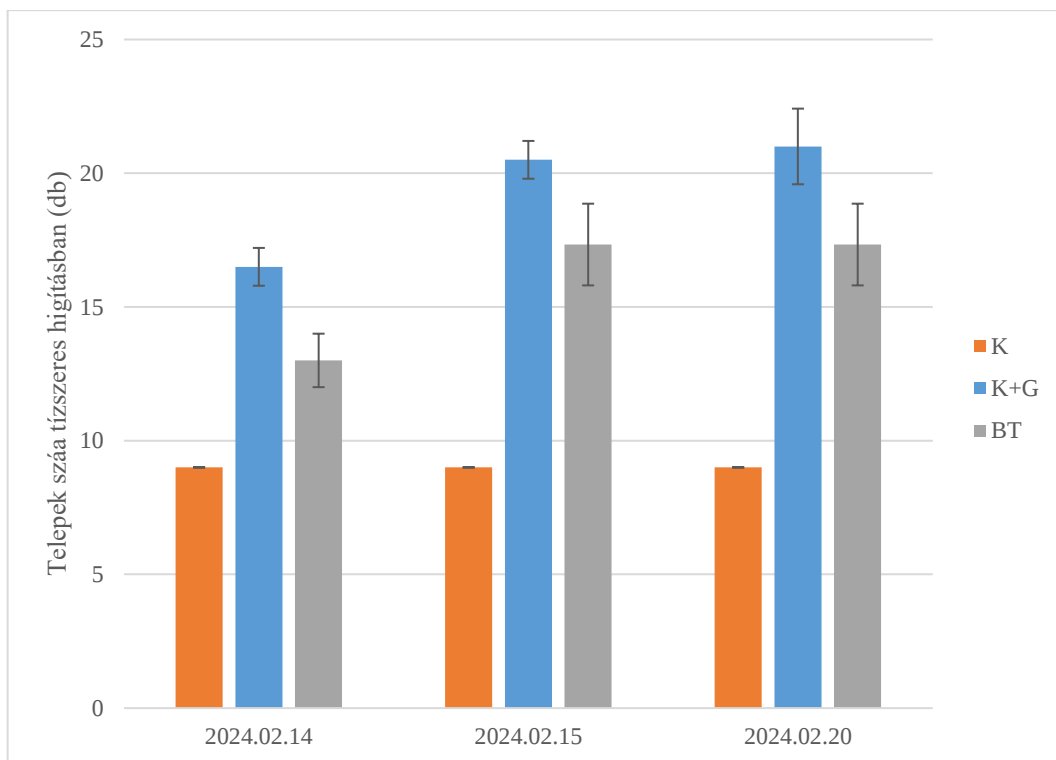
13. ábra: *Metarhizium anisopliae* telepek (Met4 és K+G kezelés) szelektív táptalajon, tízszeres hígításból (Forrás: Saját, 2024)

4.3. Kezelt földigilisztákkal végzett további kísérletek

A kísérlet további részében kezelt földigilisztákat helyeztünk friss, kezeletlen közegbe és vizsgáltuk az ürülékükben fellelhető biokontroll anyagok jelenlétét. Ennél a fázisnál már összehasonlítottuk azzal a talajközeggel is a mintákat, ami nem tartalmazott földigilisztákat.

4.3.1. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* kimutatása

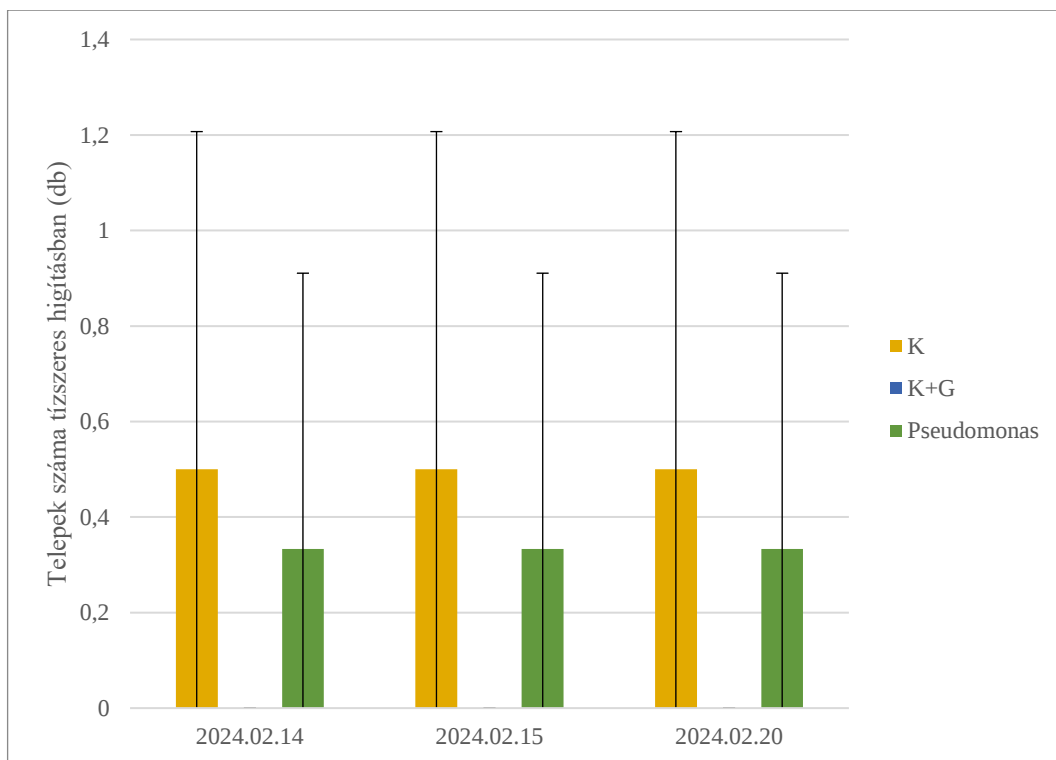
A következő diagram szemlélteti a kontroll (K), a kezeletlen földigiliszták (K+G) és a *B. thuringiensis* var. *kurstaki* szuszpenzióval (BT) már korábban kezelt földigiliszták ürülékeiből származó eredményeket. Mind a három alkalommal lejegyeztük a telepek számát és ezen számok átlagaiból alkottuk meg a diagramot. Látható, hogy a kontroll talajminták esetén a telepszám nem mutatott változást. A kezeletlen ürülékminták a napok előrehaladtával mutattak némi növekedést és ezeknél a mintáknál volt a legmagasabba telepek száma is. A kezelt földigiliszták ürülékeiben is fellelhető volt a *B. thuringiensis* var. *kurstaki* jelenléte, de kisebb mértékű volt a számuk illetve a telepek növekedése is, mint a kezeletlen minták esetében volt (14. ábra).



14. ábra: *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* telepszám változás a földigiliszták és a *B. thuringiensis* var. *kurstaki* kezelés hatására

4.3.2. *Pseudomonas fluorescens* kimutatása

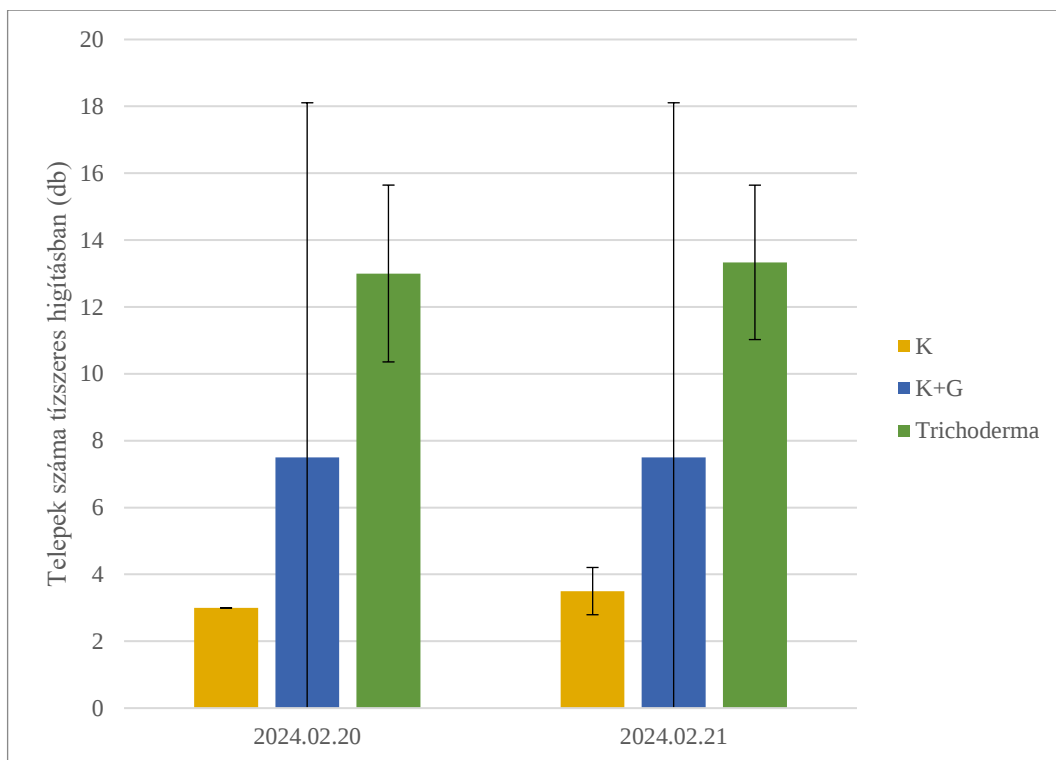
A diagram nagyon jól szemlélteti, hogy az friss közegbe történő, földigiliszták által terjesztett *Pseudomonas fluorescens* (*Pseudomonas*) megjelenésének eredményei eltérnek attól, amit várnánk (15. ábra). Általánosan elmondható, hogy a *P. fluorescens* kezelések bizonyultak a leggyengébbnek minden elvégzett kísérletben. A táptalajokon alig találtunk fluoreszkáló telepeket, ezért esnek az értékek 1 alá. Ami ebben az esetben is rendkívülinek bizonyult, hogy míg a korábbi kísérletnél magasabb értékeket mutatott a kezeletlen földigilisztás közeg mintái (K+G) a kezelttel szemben, addig ennél a vizsgálatnál nem alakult ki telep és még a kezeletlen talajközegeből származó mintákban (K) is több fluoreszkáló telepet véltünk felfedezni, mint a kezelt mintákban. A kapott értékek között nagy volt a változékonyság így a szórások mértéke rendkívül nagy volt



15. ábra: *Pseudomonas fluorescens* telepszám változás a földigiliszták és a *P. fluorescens* kezelés hatására

4.3.3. *Trichoderma asperellum* kimutatása

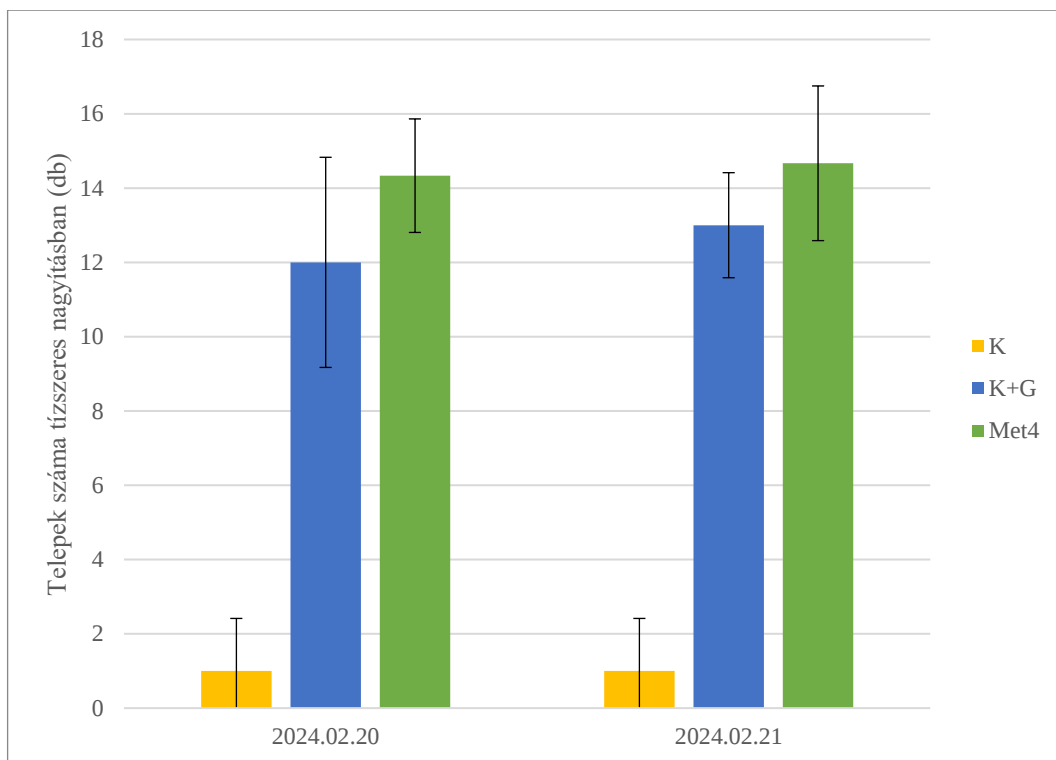
A gombaszervezetek mutatták a legbiztosabb eredményeket a kísérlet során. A diagramon látható, hogy a kezeletlen talajközeghez (K) képest és a kezeletlen földigilisztáürülékhez (K+G) képest is nagyobb számban jelentek meg telepek a korábban *Trichoderma asperellum* szuszpenzióval (*Trichoderma*) már kezelt földigiliszták ürülékéből származó mintákban. A kezeletlen talajközeg esetén a szórás minimálisnak tekinthető a többi kezeléshez képest. A kezeletlen de földigilisztákat tartalmazó közegből származó eredmények adták a leginkább kiugró eredményt a szórás tekintetében, miszerint még negatív irányban is elmozdult. A kezelt minták esetén is nagyobb szórást tapasztaltunk (16.ábra).



16. ábra: *Trichoderma asperellum* telepszám változás a földigiliszták és a *T. asperellum* kezelés hatására

4.3.4. *Metarhizium anisopliae* kimutatása

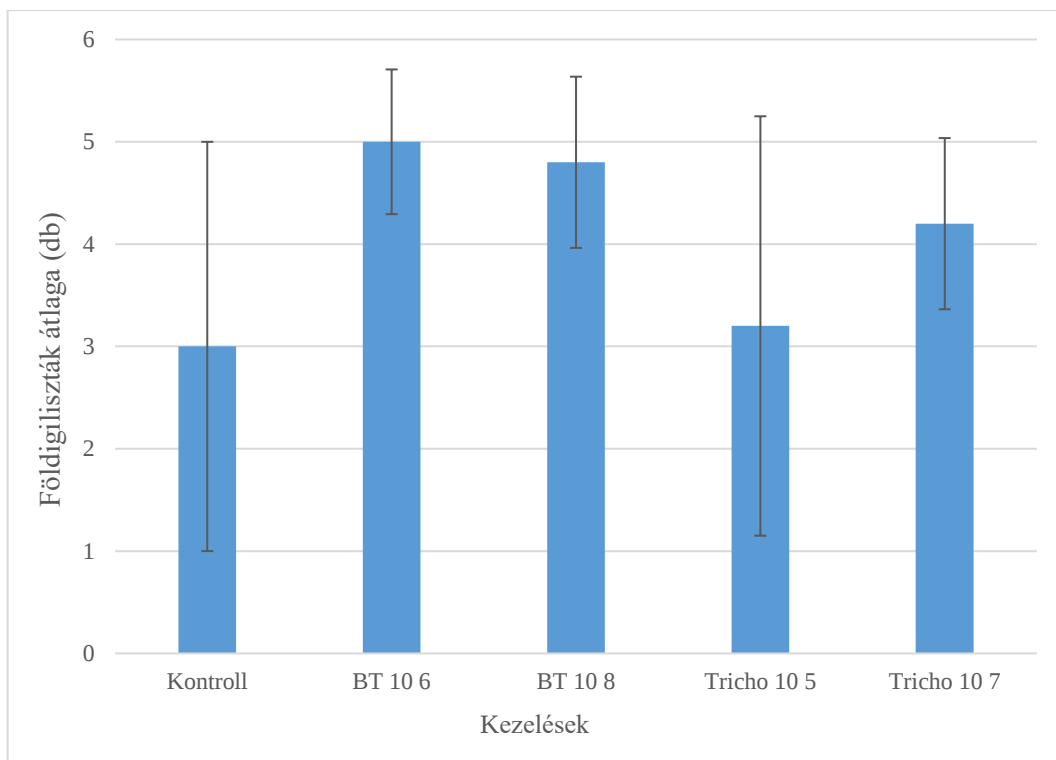
A következő diagramról leolvasható, hogy a kezeletlen talajmintákhoz képest (K) nagyobb számban jelentek meg telepek a kezeletlen földigiliszták ürülékéből származó mintákban (K+G) valamint a korábban *Metarhizium asperellum*-mal kezelt földigiliszták ürülékéből származó mintákban (Met4). A kezeletlen és a kezelt eredmények között nincs nagy eltérés de a kezeletlen talajmintákhoz képest nagy különbség tapasztalható. A szórás a kezeletlen talajminták esetén meglehetősen nagy volt és még negatív irányban is elmozdult, valamint a kezeletlen és kezelt minták esetén is nagy szórást tapasztalhattunk (17. ábra).



17. ábra: *Metarhizium anisopliae* telepszám változás a földigiliszták és a *M. anisopliae* kezelés hatására

4.4. Dózis kísérlet

A dózis kísérletnél célunk volt alátámasztani azt a követelményt, hogy adott növényvédőszer-jelen esetben biológiai növényvédőszer- nem okozhat kárt hasznos élő szervezetekben. A kezdeti 5-5 darab földigilisztához képest meglehetősen különböző eredmények születtek. Általánosan elmondhatjuk, hogy az átlagszámítások szerint a *B. thuringiensis* var. *kurstaki* szupszpenziókkal kezelt minták maradtak fenn a legjobban az eredeti 5-5 darabszámhoz képest. A *T. asperellum*- mal kezelték esetén ezt a tényt már kevésbé lehet ilyen határozottan állítani. A diagramon (18. ábra) az is látható, hogy a kontroll közeghez képest minden másik kezelt közeg megnövekedett darabszámot mutat. A szórások mértéke is kezelésenként eltér. A kontroll mintánál valamint a Tricho 10^5 minták esetén voltak a legnagyobbak, de a többi kezelés esetén is nagy szórást tapasztalhattunk.



18. ábra: *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*-val és *Trichoderma asperellum*-mal végzett dóziskísérlet *Dendrobaena veneta* földigilisztán

4.5. Talajkémiai vizsgálatok

A kísérlet alatt talajkémiai vizsgálatokat is végeztünk mely során nem tapasztaltunk korrelációt a földigiliszták jelenléte, a különböző kezelések és a kapott talajkémiai paraméterek között.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A célkitűzéseink között szerepelt, hogy megvizsgáljuk, milyen hatása van a különböző biokontroll szervezeteknek a földigilisztákra nézve, emellett megvizsgáltuk, hogy a földigiliszták milyen hatással vannak a biokontroll mikroorganizmusokra a telepek számának változásában. Továbbá megvizsgáltuk, milyen hatással vannak a talaj kémiai jellemzőire a különböző biokontroll kezelések.

A földigiliszták tömegének vizsgálatát tekintve azt az eredményt kaptuk, hogy a kezeletlen földigiliszták tömegéhez képest a kezelt földigiliszták tömege megnövekedett. A négy kezelés közül leginkább a *T. asperellum*-mal és a *M. anisopliae*-val kezelt földigiliszták tömege növekedett, ami alátámasztja egy korábbi kutatásban leírt eredményeket, miszerint a gombaszervezetek gyorsabban terjednek olyan közegben, ahol földigiliszták is jelen vannak (Edwards & Arancon , 2022). Ezzel szemben a *P. fluorescens*-szel kezelt földigiliszták tömege csökkent, valamint az említett kezelés a későbbi kísérletek során sem tett eleget az általunk felállított elvárásoknak, és a korábbi kísérleteknél leírt eredményektől is eltért (Abd El-Aziz & Bashandy, 2019). A földigiliszták második fázisban mért tömegváltozásánál csökkenő tendenciát véltünk felfedezni, mely jelenség azzal is magyarázható, hogy a földigiliszták tömege a kísérlet beállításának paraméterei miatt csökkentek, mivel nem volt hozzátetés.

A földigiliszták ürülék-vizsgálatánál mind az első mind a második fázist tekintve, a gombaszervezetekkel kezelt minták mutattak pozitív eredményeket. A kezeletlen földigilisztákhoz képest és a második fázisban mért kontroll talajmintához képest is kiugróan magas telepszám jelent meg a kezelt mintákból. Mind a *T. asperellum*, mind a *M. anisopliae* kezeléseknél a kezeletlen talajminták (K) mutatták a legalacsonyabb telepszámot, a kezeletlen földigilisztákat tartalmazó minták (K+G) már több telepszámot mutattak, és a kezelt mintákból (*Trichoderma*, Met4) származó telepszámok mutatták a legmagasabb értékeket, ami arra enged következtetni, hogy a mikróbák terjedésére pozitív hatással van a földigiliszták jelenléte. A *B. thuringiensis* var *kurstaki* kezelés esetén érdekes adatokat kaptunk; miszerint a kezeletlen, földigilisztákat tartalmazó mintákból (K+G) szignifikánsan magasabb telepszámot mutattunk ki, mint a kezelt (BT) mintákból. Ezt a jelenséget magyarázhatja az, hogy a talajban jelenlévő más *Bacillus* fajok (melyek ugyanolyan telepeket hoznak létre) abundanciáját növelte a földigiliszták jelenléte az adott közegben vagy a közegben megtalálható *Bacillus* fajok közti kompetíció is okozhatta ezt a jelenséget. A *P. fluorescens* kezelés esetén is ehhez hasonló jelenséget tapasztaltunk.

A dóziskísérlet során azt az eredményt kaptuk, hogy a kontroll mintákhoz képest a különböző koncentrációjú szuszpenziókkal kezelt mintákban megnövekedtek a földigiliszták számai. Ugyan BT valamint a Trichoderma kezeléseknél is előfordult, hogy csökkent a földigiliszták száma, de a kontroll mintákhoz képest még így is kisebb mértékű volt a mortalitás, amire a lehetséges magyarázat, hogy a talajban a mikroorganizmusok biztosítják többek között a cellulóz bomlását is így a földigiliszták jobban tudják hasznosítani azt.

A talajkémiai vizsgálatok során nem tapasztaltunk változást és nem véltünk felfedezni korrelációt a földigiliszták jelenléte, a kezelések és a talajkémiai adatok között.

Meglátásaink szerint célszerű volna folytatni a kísérletet a földigiliszta ürülékekből származó telepek antagonista hatásának vizsgálatával több kórokozóra kiterjesztve. Emellett érdekes lehet egy hasonló kísérletet beállítani, és vizsgálni a különböző hatásokat más talajközegekkel, más biokontroll szervezetekkel és más földigiliszta fajokkal. További kísérletre adhat okot a különböző biokonroll szervezetek hatásának vizsgálata más talajlakó szervezetekre.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Az Európai Unió által hozott változások eredményként a biológiai növényvédelem egyre szélesebb körben terjed. A mezőgazdaság ezen területén folyamatos kutatások és kísérletek zajlanak, amelyek elősegítik a biológiai növényvédelem fejlődését és az integrált növényvédelemben betöltött szerepüket. Az EU-s direktívák hatására a növényvédőszergyártó multinacionális vállalatok is egyre nagyobb figyelmet fordítanak a biológiai növényvédelemre és egyre több engedélyezett biológiai készítményt tettek hozzáférhetővé a piacon.

Munkám során biokontroll szervezetek hatását vizsgáltuk egy adott földigiliszta fajra nézve, emellett a földigiliszták különböző biokontroll szervezetekre gyakorolt hatását is vizsgáltam. Továbbá kísérletet végeztünk a talaj kémiai paraméterei és a biokontroll szervezetek közt fellépő változásokra is.

A kísérlet két fő lépésből állt, mely során *Dendrobaena veneta* földigilisztákat helyeztem általános palántaföldbe és öt féle kezelést állítottunk be. Volt egy kontroll közeg, amit nem kezeltünk biokontroll szervezettel és volt további négy, melyeket különböző biokontroll szervezetekkel kezeltünk. A földigiliszták tömegmérése mellett a földigiliszták ürülékéből később izoláltuk a különböző biokontroll szervezeteket. A kísérlet második fázisában a már kezelt földigilisztákat helyeztük át friss, kezeletlen közegbe, hogy megvizsgáljuk a földigiliszták képesek-e terjeszteni a biokontroll szervezeteket. A kísérlet tartalmazott még egy dózis vizsgálatot is, ahol koncentráltabb biokontroll szuszpenzióval kezeltük a vizsgált földigiliszta fajt. A kísérlet során talajkémiai vizsgálatokat is végeztünk.

Az eredmények kiértékelésénél azt tapasztaltuk, hogy a földigiliszták is hatással voltak a biokontroll szervezetekre telepszámuk változásainak tekintetében, valamint a biokontroll szervezetek is hatást gyakoroltak a földigiliszták tömegére. A legszembetűnőbb eredményt a gombaszervezetekre gyakorolt hatás mutatta. Emellett a talajkémiai paraméterekre is hatással voltak a szervezetek.

Az általunk végzett kísérletek meglehetősen kezdetlegesek, ezért célszerű lenne egy hosszabb távú, több irányban kiterjesztett vizsgálatot beállítani, mely alkalmas lehet a földigiliszták és a biokontroll szervezetek kölcsönhatásának és a környezetre gyakorolt hatásuk vizsgálatára.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton is szeretném megköszönni a konzulenseim, **Dr. Turóczy György** és **Dr. Simon Barbara** segítő munkáját, támogatásukat és közreműködésüket, ami hozzájárult a dolgozat elkészüléséhez.

Köszönettel tartozom mindazoknak, akik segítséget nyújtottak a kísérlet során: **Czinkóczy Attilának** és családjának a földigilisztákért és **Gergely Ildikónak** a laboratóriumban végzett munkáért.

Emellett köszönetet érdemelnek a barátaim, **Kőműves Kata** és **Horváth Boglárka**, akiktől folyamatos megerősítést és ösztönzést kaptam, amiért nem lehetek elég hálás.

Továbbá hálával tartozom a családomnak és a páromnak, akik mindig támogattak, mellettem álltak és mindig számíthattam rájuk.

8. IRODALOMJEGYZÉK

- Abd El-Aziz, F.-Z. A., & Bashandy, S. R. (2019). Dose-dependent effects of *Pseudomonas* *trivialis* rhizobacteria and synergistic growth stimulation effect with earthworms on the common radish. *Rhizosphere*.
- Abd-Elgawad, M. M., & Askary, T. H. (2020). Factors affecting success of biological agents used in controlling the plant-parasitic nematodes. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30, 17.
- Adhikary, S. (2012). Vermicompost, the story of organic gold. *Agricultural Science*, 905-917.
- Andrews, R. E., Faust, R. M., Wabiko, H., Raymond, K. C., & Bulla, L. A. (1997). The biotechnology of *Bacillus thuringiensis*. *Crit Rev Biotechnol*, 6(2):163-232.
- Angus, T. A. (1954). A bacterial toxin paralysing silkworm larvae. *Nature*, 173: 545-546.
- Atlavinyte, O., & Pociene, C. (1973). The effect of earthworms and their activity on the amount of algae in the soil. . *Pedobiologia*, 13: 445-455.
- Barratt, B. I., Moran, V. C., Bigler, F., & Van Lenteren, J. C. (2018). The status of biological control and recommendations for improving uptake for the future. *BioControl*, 63, 155–167.
- Bassalik, K. (1913). On silicate decomposition by soil bacteria. *Z. Garungs-Physiol*, 2: 1-32.
- Benz, G., & Altwegg, A. (1975). Safety of *Bacillus thuringiensis* for Earthworms. *JOURNAL OF INVERTEBRATE PATHOLOGY*, 125-126.
- Berliner, E. (1915). About the sleep sickness of the *Ephestia kühniella* Zell and its vector *Bacillus thuringiensis*. *Angew Entomol*, 2: 29–56.
- Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X., & Gardan, L. (2000). The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. *Agronomie*, 20, 51-63. Forrás: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-taxonomy-of-Pseudomonas-fluorescens-and-putida%3A-Bossis-Lemanceau/7925735097c549cc93a5cf72efa48a293ec3cfde>
- Brown, G. G. (1995). How do earthworms affect microfloral and faunal community diversity. *Plant and Soil*, 170, 209–231.
- Brunner-Mendoza, C., Reyes-Montes, M., Moonjely, S., Bidochka, M. J., & Toriello, C. (2019). A review on the genus *Metarhizium* as an entomopathogenic microbial biocontrol agent with emphasis on its use and utility in Mexico. *Biocontrol Science and Technology*, 83-102.
- Buzás, I. (1988). *Talaj- és agrokémiai vizsgálati módszertkönyv 2. - A talajok fizikai-kémiai és kémiai vizsgálati módszerei*. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó.
- Chelkha, M., Blanco-Pérez, R., Vicente-Díez, I., Bueno-Pallero, F. Á., Amghar, S., El Harti, A., & Campos-Herrera, R. (2021). Earthworms and their cutaneous excreta can

- modify the virulence and reproductive capability of entomopathogenic nematodes and fungi. *Journal of Invertebrate Pathology*.
- Chet, I. (1990). Biological control of soil-borne plant pathogens with fungal antagonists in combination with soil treatments. In D. Hornby, *Biological Control of Soil-borne Plant Pathogens* (old.: 15-25). Oxon: CABI International.
- Chu, T. N., Tran, B. T., & Hoang, M. T. (2019). Plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas* PS01 induces salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Research Notes*, 12, 1-7.
- Costa-Gutierrez, S. B., Lami, M. J., Caram-Di Santo, M. C., Zenoff, A. M., Vincent, P. A., Molina-Henares, M. A., de Cristóbal, R. E. (2020). Plant growth promotion by *Pseudomonas putida* KT2440 under saline stress: role of *eptA*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104, 4577–4592.
- Csuzdi, C., & Zicsi, A. (2003). *Earthworms of Hungary (Annelida: Oligochaeta, Lumbricidae)*. Budapest: Hungarian Natural History Museum. Forrás: https://www.researchgate.net/publication/261614981_Earthworms_of_Hungary_Annelida_Oligochaeta_Lumbricidae
- Darwin, C. (1881). *The Formation of Vegetable Mould through the Action of Worms, with Observation on their Habits*. London: John Murray.
- de Barjac, H., & Bonnefoi, A. (1962). Essai de classification biochimique et sérologique de 24 souches de *Bacillus* de type thuringiensis. *Entomophaga*, 7: 5–31.
- De Menezes, A. B., Prendergast-Miller, M. T., Macdonald, L. M., Toscas, P., Baker, G., Farrell, M., Thrall, P. H. (2018). Earthworm-induced shifts in microbial diversity in soils with rare versus established invasive earthworm populations. *FEMS Microbiology Ecology*, 94.
- Edwards, C. A., & Arancon, N. Q. (2022). Earthworms as Pests and Benefactors. In C. A. Edwards, & N. Q. Arancon, *Biology and Ecology of Earthworms* (old.: 335-370).
- Edwards, C. A., & Arancon, N. Q. (2022). Interactions Between Earthworms, Microorganisms, and Other Invertebrates. In C. A. Edwards, & N. Q. Arancon, *Biology and Ecology of Earthworms* (old.: 275-301).
- Edwards, C. A., & Fletcher, K. E. (1988). Interactions between Earthworms and Microorganisms in Organic-matter Breakdown. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 235-247.
- Elad, Y., Barak, R., Chet, I., & Henis, Y. (1983b). Ultrastructural studies of the interaction between *Trichoderma* spp. and plant pathogenic fungi. *Phytopathol Z*, 107:168–175.
- Guzmán-Guzmán, P., Kumar, A., Villalobos, S., Parra-Cota, F. I., Orozco-Mosqueda, M., Fadji, A. E., . . . Santoyo, G. (2023). *Trichoderma* Species: Our Best Fungal Allies in the Biocontrol of Plant Diseases—A Review. *Plants*, 12(3): 432.
- Helyer, N., Cattlin, N. D., & Brown, K. C. (2014). *Biological Control in Plant Protection: A Colour Handbook, Second Edition*. London: Taylor and Francis Group.

- Herrera-Estrella, A., & Chet, I. (2004). The Biological Control Agent *Trichoderma* From Fundamentals To Applications. In D. K. Arora, *Handbook of Fungal Biotechnology* (old.: 147-056). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Heydari, A., & Pessarakli, M. (2010). A Review on Biological Control of Fungal Plant Pathogens Using Microbial Antagonists. *Journal of Biological Sciences*, 10(4).
- Höfte, H., & Whiteley, H. R. (1989). Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. . *Microbiol Rev*, 53: 242–255.
- Hutchinson, S. A., & Kamel, M. (1956). The effect of earthworms on the dispersal of soil fungi. . *J. Soil Sci.*, 7: 213-218.
- Kiss, J., & Delos, M. (2020). Implementing biopesticides as part of an integrated pest management (IPM) programme. In N. Birch, & T. Glare, *Biopesticides for sustainable agriculture* (old.: 21-40). London: Burleigh Dodds Science Publishing.
- Kostecka, J., Garczyńska, M., Podolak, A., Pączka, G., & Kaniuczak, J. (2018). Kitchen organic waste as material for vermiculture and source of nutrients for plants. *Journal of Ecological Engineering*, 19 (6) 267-274.
- 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*, 10, 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).
- Llorens, E., & Agustí-Brisach, C. (2022). Biocontrol of Plant Diseases by Means of Antagonist Microorganisms, Biostimulants and Induced Resistance as Alternatives to Chemicals. *Plants*, 11(24):3521.
- Lowe, C. N., Butt, K. R., & Sherman, R. L. (2014). Current and Potential Benefits of Mass Earthworm Culture. In J. Morales-Ramos, G. Rojas, & D. I. Shapiro-Ilan, *Mass Production of Beneficial Organisms. Invertebrates and Entomopathogens*. (old.: 683–709). Academic Press of Elsevier.
- Lynch, M. J., & Baumann, P. (1985). Immunological comparisons of the crystal protein from strains of *Bacillus thuringiensis*. *J Invertebr Pathol*, 46: 47–57.
- Manocha, M. S., & Sahai, A. S. (1993). Mechanisms of recognition in necrotrophic and biotrophic mycoparasites. *Can J Microbiol*, 39:269–275.
- Marfenina, O. E., & Ishchenko, I. A. (1997). Earthworms preference for soil microscopic fungi. *Izvestiya Akademii Nauk Seriya Biologicheskaya*, 4, 504–506.
- Mathew, I. L., Singh, D., Tripathi, C. P., & Singh, R. P. (2014). *Bacillus thuringiensis*: the biocontrol agent in a food web perspective. *Biolife*, 2(1):348-362.
- Moody, S. A., Briones, M. I., Pearce, T. G., & Dighton, J. (1995). Selective consumption of decomposing wheat straw by earthworms. *Soil Biol. Biochem.*, 27, 1209–1213.

- Newell, K. (1984). Interactions between two decomposer basidiomycetes and a collembolan under Sitka spruce: distribution, abundance and selective grazing, abundance and selective grazing. *Soil Biol. Biochem.* , 16, 227–233.
- O'Brien, P. A. (2017). Biological control of plant diseases. *Australasian Plant Pathology*, 46, 293–304.
- Parle, J. N. (1963). Microorganisms in the intestines of earthworms. *J. Gen. Microbiol*, 31: 1-11.
- Patel, T. K. (2020). Chapter 29 - *Metarhizium*. In N. Amaresan, M. Kumar, K. Annapurna, K. Kumar, & A. Sankaranarayanan, *Beneficial Microbes in Agro-Ecology* (old.: 593-610). Academic Press.
- Perel, T. S. (1979). *Range and regularities in the distribution of earthworms of the USSR fauna*. Moszkva: Nauka.
- Pfiffner, L., & FiBL. (2021). Földgiliszták- A termékeny talajok építészei. ÖMKi- Ökológiai Mezőgazdasági Kutatóintézet.
- Pilet-Nayel, M. L., Moury, B., Caffier, V., Montarry, V., Kerlan, M. C., Fournet, S., . . . Delourme, R. (2017). Quantitative resistance to plant pathogens in pyramiding strategies for durable crop protection. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1838.
- Podolak, A., Kostecka, J., Mazur-Pączka, A., Garczyńska, M., Pączka, G., & Szura, R. (2020. január). Life Cycle of the *Eisenia fetida* and *Dendrobaena veneta* Earthworms (Oligochaeta, Lumbricidae). *Journal of Ecological Engineering*, 40-45.
- Ponomareva, S. I. (1953). The influence of the activity of earthworms on the creation of a stable structure in a sod-podzolized soil. . *Tr. Pochv. Inst. Dokuchaeva*, 41: 304-378.
- Purvis, B., Mao, Y., & Robinson, D. (2019). Three pillars of sustainability: In search of conceptual origins. *Sustainability Science*, 14, 681–695.
- Rabatin, S. C., & Stinner, B. R. (1988). Indirect effects of interactions between VAM fungi and soil-inhabiting invertebrates on plant processes. *Agric. Ecosystems Environ.*, 24: 135-146.
- Roberts, D. W., & St leger, R. (2004). *Metarhizium* spp., Cosmopolitan Insect-Pathogenic Fungi: Mycological Aspects. *Advances in Applied Microbiology*, 54:1-70.
- Roddam, L. F., & Rath, A. C. (1997). Isolation and characterization of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* from subantarctic Macquarie Island. *J. Inverte. Path.* , 69, 285–288.
- Roy, H. E., Vega, F. E., Chandler, D., Goettel, M. S., Pell, J., & Wajnberg, E. (2010). The ecology of fungal entomopathogens. *Springer*.
- Ruiu, L. (2018). Microbial Biopesticides in Agroecosystems. *Agronomy*, 8, 235.
- Sah, S., & Singh, R. (2016). Phylogenetical coherence of *Pseudomonas* in unexplored soils of Himalayan region 3. *Biotech*, 6 (2), 1–10.

- Sah, S., Krishnani, S., & Singh, R. (2021). Pseudomonas mediated nutritional and growth promotional activities for sustainable food security. *Current Research in Microbial Sciences* , 24:2:100084.
- Samsonov, D. P., Vazquez-Padron, R. I., Ayra-Pardo, C., & Gonzalez-Cabrera, J. (1997). *Bacillus thuringiensis*: From biodiversity to biotechnology. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 19(3):202-19.
- Sanahuja, G., Banakar, R., Twyman, R., Capell, T., & Christou, P. (2011). *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications. *Plant Biotech J*, 9: 283–300.
- Santocki, M., Falniowski, A., & Plytycz, B. (2016). Restoration of experimentally depleted coelomocytes in juvenile and adult composting earthworms *Eisenia andrei* E. *fetida* and *Dendrobaena veneta*. *Applied Soil Ecology* , 104, 163–173.
- Sapkota, R., Santos, S., Farias, P., Krogh, P. H., & Winding, A. (2020). Insights into the earthworm gut multi-kingdom microbial communities. *Science of the Total Environment* , 727, 138301.
- Sebayang, N. U., Sabrina, T., & Sari, R. M. (2022). *Analysis the nutrient of bio-vermicompost with different techniques applications of some microbes and earthworms*. England: IOP Publishing Ltd.
- Shapiro-Ilan, D. I., & Brown, I. (2013). Earthworms as phoretic hosts for *Steinernema carpocapsae* and *Beauveria bassiana*: Implications for enhanced biological control. *Biological Control* , 66, 41–48.
- Shaw, P. A. (1992). Fungi, fungivores, and fungal food webs. In G. C. Carroll, & D. T. Wicklow, *The Fungal Community* (old.: pp. 295–310). New York: Marcel Dekker.
- Siegel, J. P. (2000). Bacteria. In L. L. Lacey, & H. K. Kaya, *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology* (old.: 209-230). Dordrecht, Netherlands: Kluwer Scientific Publishers.
- Stefanovits, P., Filep, G., & Füleký, G. (1999). *Talajtan*. Budapest: Mezőgazda Kiadó.
- Steinhaus, E. A. (1975). *Disease in a Minor Chord*. Columbus, Ohio: Ohio State University Press.
- Tiunov, A. V., & Scheu, S. (2000). Microfungal communities in soil, litter and casts of *Lumbricus terrestris* L. (Lumbricidae): a laboratory experiment. *Applied Soil Ecology*, 17-26.
- Tiwari, S. C., Tiwari, B. K., & Mishra, R. R. (1990). Microfungal species in earthworm casts and in uningested soil. *Biol. Fertil. Soils*, 16, 131–134.
- Van Groenigen, J. W., Lubbers, I. M., Vos, H. M., Brown, G. G., De Deyn, G. B., & van Groenigen, K. J. (2014). Earthworms increase plant production: a meta-analysis. *Scientific Reports*, 4, 6365.
- Velavan , V., Dhanapal , R., Ramkumar, G., Karthi , S., Senthil-Nathan, S., Ndomba , O. A., & Kweka, E. J. (2022). Characterization and Evaluation of *Metarhizium* spp.

- (Metsch.) Sorokin Isolates for Their Temperature Tolerance. *Journal of Fungi*, 10;8(1):68.
- Wall, D. (2012). Soil Ecology and Ecosystem Services. *Oxford University Press*, p. 406.
- Weindling, R. (1932). Trichoderma lignorum as a parasite of other fungi. *Phytopathology*, 22:837–845.
- Yu, H., Yuan, M., Lu, W., Yang, J., Dai, S., Li, Q., Zhang, W. (2011). Complete genome sequence of the nitrogen-fixing and rhizosphere- associated bacterium Pseudomonas stutzeri strain DSM4166. *J. Bacterial.*, 193, 3422.
- Zicsi, A. (1974a). *A struktúra és funkció kapcsolata teresztrikus ökoszisztémák földigilisztáinak tevékenysége tükrében*. Budapest.

9. NYILATKOZATOK

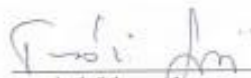
NYILATKOZAT

BAXÓ JÁNOS (név) (hallgató Neptun azonosítója: XB0721)
konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a diplomadolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót a záróvizsgán történő védésre
javaslom / nem javaslom¹.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem^{*2}

Kelt: 2024 év 10 hó 28 nap


belső konzulens

¹ A megfelelő alá húzandó.

² A megfelelő alá húzandó.

NYILATKOZAT

a diplomadolgozat nyilvános hozzáféréseiről és eredetiségről

A hallgató neve: BAKÓ TÁNNI
A Hallgató Neptun kódja: XBOF21
A dolgozat címe: FOLDIGILISZTA (ZEMOROBELIA VELETA) TALY HATÁSA
LÖVEKEDÉST SEBKEVŐ ÉS BIOKONTROLL MIKROORGANIZ-
MUSOK ELŐFORRULÁSAIRA
A megjelenés éve: 2024
A konzulens intézetének neve: LÖVEKVÉDELMI INTÉZET, KÖRNYEZETTUDOMÁNYI INTÉZET
A konzulens tanszékének a neve: INTEGRÁLT LÖVEKVÉDELMI TANSZÉK, TALAJTANI TANSZÉK

Kijelentem, hogy az általam benyújtott diplomadolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlant állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemi tulajdonkezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem MATER Hallgatói Dolgozatok repozitóriumába. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelte után

nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem MATER Hallgatói Dolgozatok repozitóriumában.

Kelt: 2024 év 10 hó 28 nap

Bakó Tanni
Hallgató aláírása