

DIPLOMADOLGOZAT

BÁRÁNYOS FANNI
osztatlan agrármérnök

Gödöllő
2023



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Szent István Campus

Osztatlan agrármérnök szak

**ENTOMOPATOGEN GOMBÁK ENDOZOOCHORIÁS
TERJEDÉSE GYŰRŰSFÉRGEKKEL ÉS ÁSZKARÁKOKKAL**

Belső konzulens: Dr. Boros Gergely
egyetemi adjunktus
Dr. Petrikovszki Renáta
tudományos munkatárs

Készítette: **Bárányos Fanni**
SGO5YS
nappali tagozat

Intézet/Tanszék: Vadgazdálkodási és Természetvédelmi
Intézet/Állattani és Ökológiai Tanszék

Gödöllő

2023

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és célkitűzések	3
2. Irodalmi áttekintés	4
2.1 Endozoochoria	4
2.2 Földigiliszták ökoszisztéma szolgáltatásai	5
2.3 Érdes pinceáskák és a faj szerepe az ökoszisztémában	9
2.4 Entomopatogén gombák	10
2.4.1 <i>Trichoderma</i> entomopatogén gomba	11
2.4.2 <i>Beauveria bassiana</i> entomopatogén gomba	12
3. Anyag és módszer	15
3.1 Az <i>Eisenia fetida</i> faj laboratóriumi tenyésztésének létrehozása és fenntartása	15
3.2 A <i>Porcellio scaber</i> faj laboratóriumi tenyésztésének létrehozása és fenntartása	16
3.3 Entomopatogén gombák beszerzése és felszaporítása	17
3.4 Etetési kísérletek beállítása <i>Eisenia fetida</i> fajjal	19
3.5 Etetési kísérletek beállítása <i>Porcellio scaber</i> fajjal	24
3.6 Visszafertőzőési kísérlet közönséges lisztbogár lárvákkal	26
3.7 Statisztikai értékelés	28
4. Eredmények	29
4.1 Etetési kísérlet <i>Eisenia fetida</i> fajjal	29
4.2 Etetési kísérlet <i>Porcellio scaber</i> fajjal	31
4.3 Visszafertőzőési kísérlet közönséges lisztbogár lárvákkal	35
5. Következtetések és javaslatok	36
5.1 Etetési kísérlet <i>Eisenia fetida</i> fajjal	36
5.2 Etetési kísérlet <i>Porcellio scaber</i> fajjal	37
5.3 Visszafertőzőési kísérlet közönséges lisztbogár lárvákkal	38
6. Összefoglalás	39
7. Köszönetnyilvánítás	41
8. Irodalomjegyzék	42
9. Mellékletek	47
10. Nyilatkozat	48

1. Bevezetés és célkitűzések

Az endozoochoria során az állat táplálkozási tevékenysége révén annak tápcsatornájába kerülnek egyes növény- és gombafajok szaporítóképletei, ott szállítódnak, majd a bélsárral kiürülve történik meg a terjesztésük. A jelentősége abban rejlik, hogy az állatok tápcsatornájában a növény-, vagy gombafajok szaporítóképletei gyorsabban és nagyobb távolságra képesek eljutni. Elsősorban emlősállatok által terjesztett magok endozoochoriás vizsgálatáról vannak információink (Claridge és Trappe, 2005; Nuske és mtsai, 2017), illetve az arbuszkuláris mikorrhiza gombák és ektomikorrhiza gombák ily módon való terjedéséről van összefoglaló (Vašutová és mtsai, 2019).

A földigiliszták számos és egymással összefüggésben álló ökoszisztéma-szolgáltatást nyújtanak (Blouin és mtsai, 2013), ugyanakkor az entomopatogén gombák terjesztése egyelőre hiányos terület. Korábbi vizsgálatok rávilágítottak arra, hogy a földigiliszták ürülékében megtalálhatók különböző gomba fajok, köztük az entomopatogén tulajdonsággal is rendelkező *Trichoderma* génusz képviselői (Tiwari és Mishra, 1993), azonban a bélcsatornán áthaladó gomba fertőzőképességéről nincs információ.

Az ászkarákok életközösségekben betöltött szerepe elsősorban az elhalt növényi részek lebontásával áll összefüggésben (Farkas és Vilisics, 2013). Támogatják a talaj termékenységét és az elhalt szerves anyagok bomlását azáltal, hogy megrágják és elfogyasztják a szerves törmeléket, beleértve a gombákat, a korhadó fát és más bomló növényi anyagokat. Az ászkarákok ökoszisztémában betöltött szerepük révén pozitívan hatnak a növények fejlődésére, mivel lazítják és levegőztetik a talajt, lebontják az elhalt növényeket és más szerves törmeléket. Továbbá az ürülekükkel, az úgynevezett "frass"-sal képesek trágyázni is azokat. A talajlakó szervezetek, köztük is az ászkarákok a tápanyagkörforgás elsődleges mozgatórugói, szabályozzák a talaj szervesanyag-dinamikáját, a talaj szénmegkötését és az üvegházhatású gázok kibocsátását, módosítják a talaj fizikai szerkezetét, és fokozzák a növényzet tápanyagfelvételének szintjét és hatékonyságát (Bardgett és Wardle, 2010). Egyes talajszervezetek, mint például a szárazföldi ászkarákok, potenciálisan értékes mutatói a talaj egészségének, mivel a talajgazdálkodás szempontjából releváns időskálán (hónapok/évek) reagálnak a talajkezelésre (Balamurali, 2019).

Vizsgálataim célja, hogy laboratóriumi körülmények között egy epigeikus gyűrűsféreg (*Eisenia fetida*), valamint egy szárazföldi ászkarák (*Porcellio scaber*) tesztfajon igazolni, hogy a bélcsatornájukban entomopatogén gombafajok (*Beauveria bassiana* és *Trichoderma asperellum*) spórái szállítódnak és az ürülékkel a szabadba kerülve azok fertőzőképesek maradnak.

2. Irodalmi áttekintés

2.1 *Endozoochoria*

Az endozoochoria során az állat táplálkozási tevékenysége révén annak tápcsatornájába kerülnek egyes növény- és gombafajok szaporítóképletei, ott szállítódnak majd a bélsárral kiürülve történik meg a terjesztésük. Jelentősége nagyobb részt abban rejlik, hogy a tápcsatornában a szaporítóképletek gyorsabban és nagyobb távolságokra képesek eljutni. Elsősorban emlősállatok által terjesztett magok endozoochoriás vizsgálatáról vannak információink (Claridge és Trappe, 2005; Nuske és mtsai, 2017). A vizsgálatok során bizonyítást nyert, hogy az ektomikorrhizás gombák (EM) spórai életképesek tudnak maradni azután is, hogy átjutnak az emlősök tápcsatornáján, továbbá a kiürülés során megtörténik a terjesztésük is. Annak valószínűsége, hogy a gombaspórák az eredeti helyüktől távolabb fognak szétszóródni több függvénye is van. Többek között fontos az, hogy mennyi időt tölt el az adott állat tápcsatornájában, illetve, hogy ez idő alatt mekkora utat tesz meg az állat. Logikusan arra lehetne következtetni, hogy minél nagyobb méretű egy állat, annál nagyobb távolságok megtételére van lehetősége, tehát messzebbre fognak a szaporítóképletek is kerülni ahhoz a helyhez képest, ahol az állat elfogyasztotta azokat (Nuske és mtsai, 2017). Ugyanakkor fontos kiemelni, hogy egyéb tényezők is szerepet játszanak az előbb említett hipotézis sikerességében. A távolság esetében lényeges tényező, hogy az állat szezonálisan fogyasztja-e az adott gombafajt, vagy éppen szerepel-e a mindennapos étrendjében. Elképzelhető az a feltevés is, hogy azok az állatok, amelyek szezonálisan fogyasztják a gombát, jóval nagyobb távolságokra képesek eljuttatni a szaporítóképleteket, mint azok, amelyek nap mint nap kapcsolatba kerülnek vele (Nuske és mtsai, 2017).

További vizsgálatok többek között kimutatták, hogy az EM gombák spóráin felül az arbuszkuláris mikorrhiza (AM) gombák terjedése is lehetséges lehet az endozoochoria segítségével. Az AM gombák nagyrészt nem szándékosan kerülnek be az állatok tápcsatornájában, tehát nem szelektíven fogyasztják azokat, sokkal inkább rajta és benne lehetnek azokban a növényi részekben, amelyeket az állat szívesen vesz fel táplálék gyanánt (Vašutová és mtsai, 2019).

A gombák endozoochoriás terjedésének vizsgálatára ugróvillások és atkák esetében már voltak vizsgálatok. Az ugróvillások (Collembola) főként gombákkal táplálkoznak, így alkalom adtán nagy mennyiségű EM gombát is fogyaszthatnak, amelynek esélye ugyanakkora, mint annak, hogy AM gombával táplálkoznak. (Yamashita és Hijii, 2003). Azonban ebben az esetben az endozoochoriás terjesztés megkérdőjelezhető, hiszen a gombaspórák tápcsatornában eltöltött

ideje rövidebb volt, mint ameddig maga a táplálkozás zajlott, továbbá a szaporítóképletek nagy része megsemmisül az ugróvillások bélrendszerében (Nakamori és Suzuki, 2005).

A páncélos atkák (Oribatida) főként micéliummal táplálkoznak, amibe beletartoznak az ektomikorrhizás gombák hifái is (Schneider és mtsai, 2005). Ennek ellenére egy vizsgálat során nagy számban fedeztek fel ép spórákat az atkák tápcsatornájában (Lilleskov és Bruns, 2005).

Az entomopatogén gombák terjedésének és fertőzőképességének vizsgálatára Dromph (2001) ugróvillásokat használt különböző gombafajokkal. A vizsgálat során a gombák terjedését kétféleképpen szerette volna bizonyítani. Az egyik kísérlet során a tesztfajok kutikuláján történő terjedésre fókuszált, míg a másikon az állatok tápcsatornájában történő szállításon volt a hangsúly, illetve, hogy az ürülékükkel mennyire képesek terjeszteni a gombákat. A használt gombafajok közül a *B. bassiana* esetében az elfogyasztást követően annak csírázási rátája csökkent, viszont a konídiumok életképességére nem volt hatással a tápcsatornán való átjutás. A *Metarhizium anisopliae*-t vizsgálva arra a következtetésre jutottak, hogy a konídiumok életképessége csökkent kettő ugróvillás faj esetében, a harmadiknál azonban csak a gomba csírázási rátájában történtek változások negatív irányban. Az állatok ürülékéből kimutatható volt, hogy mind a három ugróvillás faj képes annyi konídiumot átvinni, amennyi ahhoz szükséges, hogy megfelelő gombatenyészetek alakulhassanak ki abból. Összességében a kísérlet során bizonyosodott be az a tény, hogy az ugróvillások képesek életképes konídiumokat átvinni a vizsgált gombafajokból mind a kutikulájukon, mind pedig a tápcsatornájukon keresztül (Dromph, 2001).

Sokan úgy vélik, hogy a földigiliszták fontos vektorai lehetnek az arbuszkuláris mikorrhiza gombáknak, továbbá a szaporítóképleteik képesek túlélni a tápcsatornájukban (Vašutová és mtsai, 2019; Brown, 1995). Ennek azért is van jelentősége, mert egyes gilisztafajok a felszínen nagyobb távolságot is megtehetnek, pl. a közönséges földigiliszta (*Lumbricus terrestris*) esetében ez a távolság 3,8-19,3 m is lehet (Mather és Christensen, 1992). Ennek megfelelően a táplálkozás, vagyis a gomba felvételének helyétől hasonló távolságra is eljuttathatnak gombafajokat.

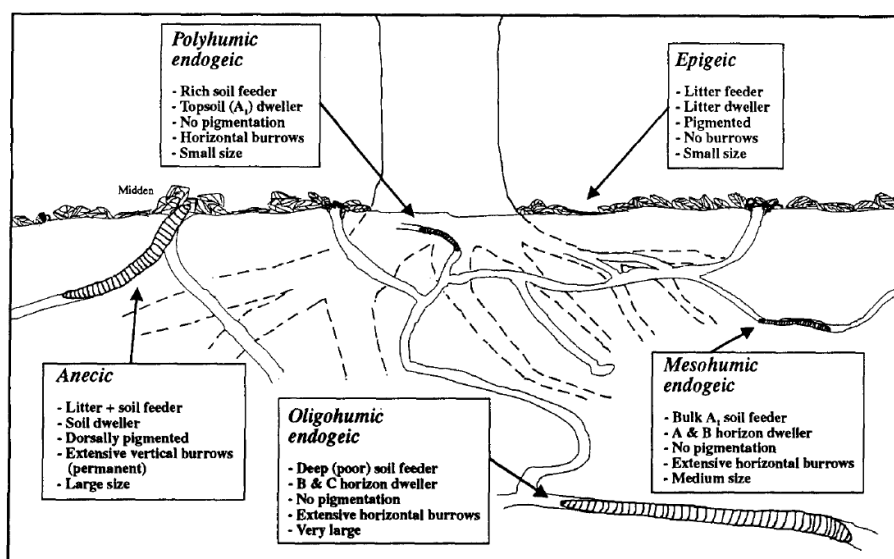
2.2 Földigiliszták ökoszisztéma szolgáltatásai

A földigiliszták világszerte előfordulnak és általában a mérsékelt hőmérsékletű nedves élőhelyeket részesítik előnyben (Horton, 2017). Ők alkotják a legnagyobb biomasszát a szárazföldi állatok közül (Lee, 1985; Edwards és Bohlen, 1996; Coleman és mtsai, 2004; Bardgett, 2005). A giliszta populációk a talaj állati eredetű biomasszájának hozzávetőlegesen

40–90%-át teszik ki, illetve számos ökoszisztémában akár a 8%-ot is elérheti a földigiliszták aránya a teljes talajbiomasszában (Sinha és mtsai, 2013).

Viselkedésük, ökológiai niche-ük és táplálkozási ökológiájuk alapján a gilisztaakat általában három fő ökológiai kategóriába (1. ábra) sorolják (Bouché, 1977; Edwards és Bohlen, 1996; Edwards, 2004).

1. Az epigeikus giliszta a szerves talaj felső részén élnek és táplálkoznak. Szerves ürülékkel állítanak elő, de talajrészecskék ritkán kerülnek be a tápcsatornáikba.
2. Az endogeikus giliszta olyan geofág (talajfogyasztó) fajok, melyek a felső szerves-ásványi talajrétegekben élnek, vízszintes járatokat építenek, a talaj ásványi eredetű részecskéivel és különböző mértékben lebontott szervesanyaggal táplálkoznak.
3. Az anexikus giliszta kihasználja a talajfelszínhez közeli rétegeit táplálékforrásként, a talaj legmélyebb rétegeit pedig menedékként, ahova jellemzően függőleges lakójáratokat ásnak. Belsőrukat általában a felszínen ürítik (Brown, 1995).



1. ábra: A földigiliszták besorolása viselkedésük, ökológiai nichük és táplálkozási ökológiájuk szerint (Bouché, 1997; Lavelle, 1981; és Lavelle és mtsai, 1989)

A fenti ökológiai kategóriákból adódik, hogy mennyi féleképpen jelen lehetnek a gyűrűsféreg az ökoszisztémában. A jelenlétük alapján lehetett arra a következtetésre jutni, hogy a driloszférában – ami azt a talajrészt, illetve a benne található mikroorganizmusokat jelenti, amelyekre a földigilisztáknak hatásuk van (Lavelle és mtsai, 1989) – számtalan kapcsolatot találhatunk a mikroorganizmusok (gombák, aktinomiceták, baktériumok), mikro-,

mezo- és makrogerinctelenek (állati egysejtűek, atkák, ugróvillások, százlábúak, ászkarák, fonálférgék) között.

Kísérletek bizonyították, hogy számos organizmus jelenlétét fokozza, redukálja vagy éppen nem befolyásolja a földigiliszták jelenléte. A talajban lévő kisebb szervezetek, mivel kevésbé tudnak mozogni a talajban, előnyösen tudják használni a giliszták által létrehozott járatokat. Azonban a mikroflóra és -fauna élőlényei érzékenyek lehetnek a földigiliszták aktivitására, míg a makrofauna képviselői, mint pl. a televényférgék jelenléte fokozódik bizonyos körülmények között. Azonban olyan lehetséges kimenetele is lehet a giliszták jelenlétének, amely során egy adott faj populációjának csökkenése figyelhető meg a táplálékért folytatott harc során (Brown, 1995). A talaj átmozgatása során fontos szerepet töltenek be a talajban lévő növényi magbankok dinamikájában is (Willems és Huijsmans, 1994).

Egyes szerzők szerint a földigiliszták ötféleképpen lehetnek hatással a talaj makro-, és mikrofaunájára. Ezek nem mások, mint a darabolás (comminution), a járat ásás (burrowing), a gilisztahumusz előállítás (casting) – ürülék és emésztetlen szerves anyagok egyvelege –, továbbá a legelés (grazing) és végül a terjesztés (dispersal) (Lussenhop, 1992; Visser, 1985). Ezek a tevékenységek megváltoztatják a talaj fizikai, kémiai és biológiai állapotát, továbbá a driloszférában okoznak jelentős változásokat annak sűrűségében, diverzitásában, struktúrájában és a benne lévő mikrobiális szervezetekben. Driloszféra alatt a talajnak azt a részét értjük, amely közvetlen kapcsolatban áll a földigiliszták által előidézett változásokkal, elsősorban a járatásást és az bélsár kiválasztást értve ez alatt (Brown, 1995).

A Millenium Ecosystem Assessment (2005, <http://www.millenniumassessment.org>) értelmében a giliszták kettő fő támogató ökoszisztéma-szolgáltatás során töltik be a katalizátor szerepét, nevezetesen a talajképzésben (Darwin, 1881) és a tápanyag körforgásban (Edwards, 2004), amelyek más szolgáltatások előfeltételei is lehetnek. A földigiliszták a növényekkel való interakciójuk révén részt vesznek a tápanyag, a fa és a rost termelésében is. Közvetlenül befolyásolják a nagyobb események okozta problémákat is, például az éghajlat- és árvízszabályozást és a víztisztítást. Továbbá szerepet játszhatnak a kármentesítésben és a helyreállításban is. A giliszták kulturális szolgáltatásokat is nyújtanak, például horgászcsaliként és a régészeti leletek előtemetésében (Dominati és mtsai, 2010).

A földigiliszták sok szempontból nagy hatással vannak a gomba populációkra és ezzel együtt az ökoszisztémára is. Az első ezek közül az, hogy szelektíven fogyasztanak gombákat, amelyekre ez által lehetnek növelő, illetve csökkentő, vagy semleges hatással. Az elfogyasztott spórák csírázását is befolyásolják, aminek hatására a szaporítóképletek jobban, kevésbé vagy egyáltalán nem fognak csírázni miután elhagyták az állat tápcsatornáját. Továbbá

megváltoztatják a csírázás sikerességét, valamint bizonyos fajok mennyiségét és diverzitását, mivel olyan mikrokörnyezetet hoznak létre, amely kedvező vagy kedvezőtlen hatással lesz a gomba fejlődésére. Végül, de nem utolsósorban csökkentik a felületi szétszóródást bizonyos gombaspórák esetében azzal, hogy eltemetik a leveleket és egyéb növényi részeket, amelyek felületükön vagy belül tartalmazzák a spórákat és a hifákat (Brown, 1995).

A vastag falú vagy ráncos spóraburokkal rendelkező gombafajok, illetve azon gombafajok, melyek sejtfalában különböző védelmi funkciót ellátó vegyi anyagok – például melanin pigmentek – találhatók, nem emésztődnek meg, miközben áthaladnak a földigiliszták tápcsatoráján (Dash és mtsai, 1979; Striganova és mtsai, 1989). Ezek a gombaspórák, melyek túlélnek a földigiliszták béltraktusait, normális, gyorsabb (Parle, 1963), vagy akár csökkent mértékű csírázóképeséget és ezt követően növekedést is mutathatnak a giliszták ürülékében (Hoffmann és Purdy, 1964; Keogh és Christensen, 1976).

Gonzalez (1990) megfigyelése szerint a gombák növekedése a gilisztaürülékben két fázist mutatott: először egy késleltetési fázist (3 nap), amikor a *Pontoscolex corethrurus* bélrendszerén áthaladó gombák lassan növekedtek, majd egy gyors növekedési fázist (>3 nap), ahol 5 nap elteltével a gombák 4-szer nagyobb mennyiségben voltak jelen, mint a kontrolltalajban. A késleltetési fázisban tapasztalt lassú növekedés oka lehet, hogy spórákból kiindulva lassabb a kolonizációs sebesség a vegetatív micéliumból történő induláshoz képest. A lassabb kolonizációs sebesség az aktív mészmirigyekkel rendelkező giliszták belébe ürülő CaCO_3 fungisztikus hatásának tudható be (Striganova és mtsai, 1989, Pearce, 1972). Egy másik magyarázat, hogy a földigiliszták bélsarában magasabb pH és tápanyagtartalom (szén, nitrogén, foszfor) serkenti a baktériumokat, melyek így elnyomhatják a gomba hifákat és késleltethetik a spórák kifejlődését (Rouelle, 1984; Striganova és mtsai, 1989).

A földigiliszták továbbá fontosak a vezikuláris-arbuszkuláris mikorrhiza (VAM) spórák terjedésében is (Brown, 1995). Megfelelő körülmények között a VAM-spórák is kihajthatnak és gyorsan növekedhetnek giliszták ürülékében (Ponge, 1991).

Vizsgálatok kimutatták, hogy a földigiliszták ürülékében mind számban, mind diverzitásban megnövekedett arányban lesznek jelen gombafajok, összehasonlítva azzal a talajjal, amelyben a földigiliszták tevékenykedtek (Tiwari és Mishra, 1993).

Összességében elmondható, hogy a földigiliszták hatása a talajban lezajló folyamatokra nem egységes, nagyban függ attól, hogy melyik ökológiai kategóriába tartozik az adott faj. Az viszont bizonyított tény, hogy számos talaj tulajdonságra és az ott végbemenő folyamatokra nagy hatással vannak (Brown, 1995).

2.3 Érdes pinceáskák és a faj szerepe az ökoszisztémában

A szárazföldi ászkarákok (Isopoda) mind a Rákok altörzsének Oniscidea alrendjébe tartoznak. A rákok közül ezen fajok alkalmazkodtak legsikeresebben a szárazföldi élőhelyekhez. Az ászkarákok ökológiai szerepe az elhalt szerves anyagok lebontásában mutatkozik meg. A lebontási folyamatokban megkülönböztethetünk méretük alapján micro-, illetve macrodecomposereket. Míg a microdecomposer kategóriába főként gombák, baktériumok tartoznak, addig a macrodecomposer kategóriába vannak jelen rovarok, gyűrűsférgék és csigák. Az ezerlábúakkal együtt az utóbbi kategóriába tartoznak az ászkarákok is (<http2>). Szaprofág állatokként főként bomló növényi anyagokkal táplálkoznak (Hornung és mtsai, 1998).

Számos szárazföldi ökoszisztémában az ászkarákok nélkülözhetetlen szerepet játszanak a lebontási folyamatokban a növényi alom mechanikai és kémiai lebontása és a mikrobiális aktivitás fokozása révén (Zimmer, 2002). Az emésztési képességeik és tulajdonságaik közvetlenül és közvetve is hozzájárulnak a bomlási folyamatokhoz (Kautz és Topp, 2000). A gyengén bomló alom hasznosítása és emésztési képességeik miatt a szárazföldi ászkarákok jelentőségére a bomlási folyamatokban a többi talajlakó állathoz képest nagy hangsúlyt fektetnek.

Az ászkarákok széles körben elterjedt és bőséges makrofaunális legelők (grazer) amelyek erős legelési nyomást gyakorolnak a micéliumrendszerekre, és a gombaközösségek összetételének fontos felülről lefelé irányuló szabályozójaként működhetnek (Crowther és mtsai, 2013). Tanulmányok kimutatták, hogy az ászkarákok legelésére adott gombaválaszok nem csak egyirányúak, hanem a legelési nyomás mennyiségi és minőségi változásaitól függően változnak. Úgy tűnik, hogy a gerinctelenek, többek között az ászkarákok táplálkozásának fajspecifikus különbségei fontos meghatározói a gombák védelmi válaszainak (Cabellero és Rohlfs, 2016).

A *Porcellio scaber*, vagyis az érdes pinceáskák számos kutatás során az ászkarákok mintafajául szolgál széles körű európai elterjedése, gyakori szinantrop (ember közelében élő) jellege és széles ökológiai toleranciája miatt. Jól tűrik a hidegebb hőmérsékletet is: az egyedek 50%-os mortalitását okozó hőmérséklet $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatt van, valamint a hőmérsékletre vonatkozó tűréstartományuk $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Tanaka és Udagawa, 1993). Viszonylag nagy mérete miatt könnyű a kezelhetősége, ugyanis az átlagos felnőtt ászkarákok mérete 15 mm, testtömege 100–150 mg körüli (Hornung és mtsai, 1998; Farkas és Vilisics, 2013).

A szárazföldi ászkarákok és az entomopatogén gombák kapcsolatáról kevés eddigi ismeret áll rendelkezésre, azonban Póss és munkatársai (2017) megfigyelték, hogy a *Beauveria*

bassiana gombával kezelt répakorong elfogyasztása nem okozott szignifikánsan nagyobb mortalitást az ászkarákok esetében, mint a kontrollcsoportnál.

2.4 Entomopatogén gombák

Az entomopatogén kifejezés azokra a mikroorganizmusokra utal, amelyek képesek megtámadni a rovarokat, gazdaként használva őket életciklusuk egy részének fejlesztésére (Delgado és Murcia, 2011). Továbbá olyan szintre csökkentik a kártevő rovarpopulációkat, hogy azok ne okozzanak gazdasági kárt az adott termesztett növényfaj termésében (Tanzini és mtsai, 2001), valamint amelyek a betegségvektorok (disease vectors) visszaszorításának eszközei is lehetnek (Scholte és mtsai, 2004).

A rovarok elleni hatásmechanizmusuk abból áll, hogy a rovarok kutikulájához csatlakoznak a spórák, majd csírázni kezdenek, behatolnak a kutikulába és szétterjednek a rovar belsejében (Mora és mtsai, 2017), és elpusztítják a megcélzott rovarokat (Batoool és mtsai, 2020). Amint a gomba elpusztítja a gazdaszervezetet, kinőhet annak holttestéből és több spórát termelhet, így megnő annak az esélye, hogy más rovarok is megfertőződjenek (Khaleil, 2016).

A rovarpatogén gombáknak számos kihívással kell szembenézni és azokhoz alkalmazkodni annak érdekében, hogy elegendő új fertőzőképes spórát termeljenek az életképes gombapopulációk fenntartásához. Először a sikeres spóra átviteléhez gyakran nagymennyiségű spóraszámot, illetve ragadós spórafelületet kell biztosítani, vagy olyan anyagok jelenléte lehet szükséges, amelyek más módon maximalizálják a spóra megtapadását (Vega és mtsai, 2012). Másodszor, a spóráknak viszonylag gyorsan ki kell csírázniuk, és meg kell kezdeniük a rovar szilárd külső vázába való behatolást, vagy túl kell élniük az emésztést orális felvétel után (Cole és Hoch, 1991; Vega és mtsai, 2012). Harmadszor, a gombasejteknek szaporodniuk kell a gazdaszervezet testüregében, az izmokban vagy más szövetekben, annak érdekében, hogy gazdaszervezet immunrendszere ne tudjon hatékonyan védekezni ellenük, aminek következtében a megfertőzött rovar elpusztul. (Vega és mtsai, 2012). Negyedszer, a kórokozónak fel kell használnia az elhullott állati tetemet ahhoz, hogy optimalizálni tudja a spóratermelést (Roy és mtsai, 2006).

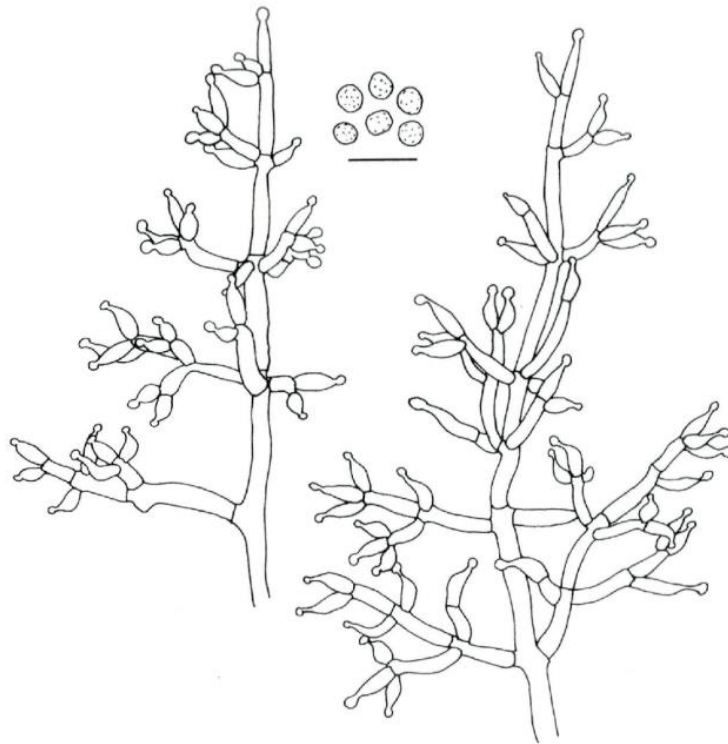
2.4.1 *Trichoderma entomopatogén gomba*

A *Trichoderma* nemzetség számos fajt foglal magába, amelyekben a Hypocreaceae családba, tartoznak és potenciálisan részt vehetnek az alábbi funkciókban: mikoparazitizmus, antibiózis, stressztűrés a fokozott gyökér- és növényfejlődés révén, szerves tápanyagok szolubilizálása és megkötése, kórokozók enzimjeinek inaktiválása. Ezek mellett, mint hatékony biokontroll szervezetek működnek illékony és nem illékony toxikus metabolitok termelésének köszönhetően (Benítez és mtsai, 2004).

A *Trichoderma* gombanemzetség általában kozmopolita, nagy genetikai diverzitással rendelkezik (Grinyer és mtsai, 2004; Samuels, 2006; Zhang és mtsai, 2007). Megtalálhatók többek között mezőgazdasági területeken, mocsarakban és sivatagokban is (Grinyer és mtsai, 2004; Samuels, 2006; Zhang és mtsai, 2007). A *Trichoderma* fajok a természetes talajból, a korhadó szerves növényi anyagokból és fából könnyen izolálhatók. A *Trichoderma* génusz képviselői a Fungi Imperfecti csoportba tartoznak, tehát olyan gombák, amelyek nem mutatnak ivaros fázisokat, azaz reprodukciójuk aszexuális spórákkal, konídiumokkal történik (http3, Howell, 2003; Küçük és Kivanç, 2004).

A *Trichoderma asperellum* gomba első leírása Samuels és mtsai (1999) nevéhez fűződik. Rifai (1969) és Bissett (1991) hivatalos rendszertani következtetéseket nem tartalmazó vizsgálataira alapozták a hipotézisüket, miszerint a *Trichoderma viride* törzsek közötti jelentős különbségek – ideértve a konídiumok alakját és megjelenését – abból adódnak, hogy nem egy fajról van szó a valóságban. A *T. asperellum* fajnál a konídiumok enyhén tojásdad alakúak, az elsődleges ágak fokozatosan hosszabbodnak a csúcstól számítva, a másodlagos ágak a főághoz hasonló hosszúságúak, majd harmadlagos ágakat hoznak létre, amelyek lényegesen rövidebbek. A fialidok ugyanakkora eséllyel jelenhetnek meg az elsődleges, másodlagos és harmadlagos ágakon is, azokon jellemzően 2–4-es fűrtben helyezkednek el. Alakjuk egyenes, ampullaszerű, középen kissé szélesebbek (2. ábra). A konídiumok továbbá a középpont felé sötétzöld színűek, szemölcsös vagy érdes felszínűek. (Samuels és mtsai, 1999).

Annak ellenére, hogy a *Trichoderma asperellum* elsősorban nem entomopatogén gombaként van jelen a köztudatban, rendelkezik olyan toxikus hatásokkal a rovarok irányába is, amelyek az exoskeletonba való behatolás után szintetizált másodlagos metabolitoknak tulajdonítható. A tanulmányok szerint a *T. asperellum* által termelt még nem azonosított metabolitok mérgezőek az amerikai csótány (*Periplaneta americana*) számára (Abdul-Wahid és Elbanna, 2012).



2. ábra: A *Trichoderma asperellum* konídiumtartói és a konídiumok (Samuels és mtsai, 1999)

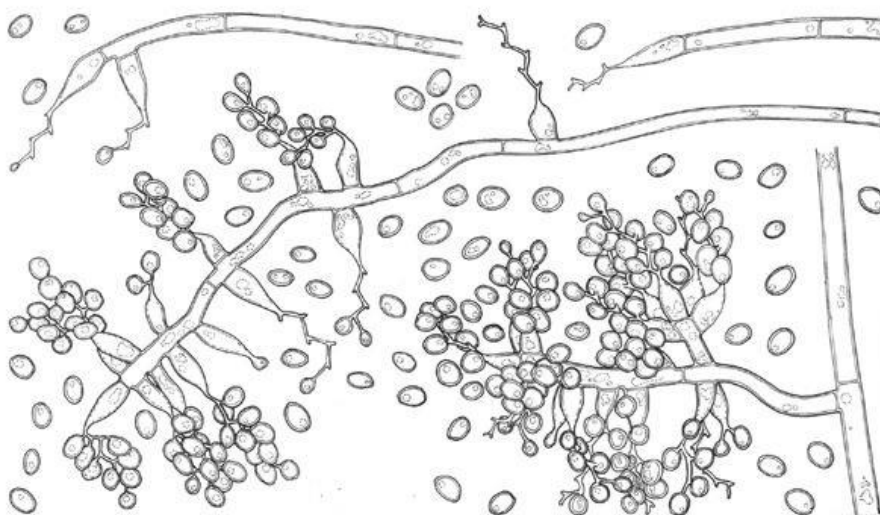
Stefanelli és munkatársai (2021) laboratóriumi körülmények között végzett vizsgálatai kimutatták, hogy azok a kezelések, amelyek tartalmaznak *Beauveria bassiana* és *T. asperellum* konídiumokat, hatékonyak voltak a levélvágó hangya (*Atta sexdens rubropilosa*) elleni védekezésben, mivel a lárvák, bábok és a kifejlett egyedek (imágók) pusztulását okozták. A fertőzés során a hangyákat külsőleg fertőzték meg a gombákkal, mégpedig belemerítették őket különböző koncentrációjú spóraszuszpenziókba.

2.4.2 *Beauveria bassiana* entomopatogén gomba

A *B. bassiana* tevékenysége különös figyelmet kapott az elmúlt évek során, mivel negatív hatása van számos gazdasági növényt károsító rovarra, többek között a gyapotlevéltetűre is (Vega és mtsai, 2009). A *B. bassiana* entomopatogén tulajdonságokkal rendelkező, talajban élő, hipomicétás gomba. Ennek a gombának az izolátumai világszerte előfordulnak, és a rovarok kiterjedt gazdakörével rendelkeznek azok fejlődésének minden szakaszában. Hatékonyságuk kiemelkedő a növénykártevők, mint például az ormányosbogár-félék közé tartozó kis levélvágó (*Artipus floridanus*), a burgonyabogár (*Leptinotarsa decemlineata*), európai kukoricamoly (*Ostrinia nubilalis*), üvegházi molytetű, (*Trialeurodes vaporariorum*), a

kukoricaszár moly (*Elasmopalpus lignosellus*) és a dohánytripsz (*Bemisia tabaci*) ellen (Ownley és mtsai, 2004). Kimutatták továbbá, hogy a *B. bassiana* endofitikusan kolonizálja a növényeket, és szisztémikusan pusztítja a kártevő rovarokat anélkül, hogy káros hatással lenne a növényi gazdaszervezetre (Ownley és mtsai, 2004).

A *B. bassiana* gomba micéliuma általában fehér vagy világos színű, főként sárgás, gyengén rózsaszínes jegyekkel, amely képes behatolni a szubsztrátumba, és gazdagon fejlett légmicéliumot képes fejleszteni. A konidiofórumok megjelenése történhet egyedül álló fialidok, vagy ezeknek a csoportosulásai révén. A fialidok konídiumtartó része meghajlik, a hajlatokban egysejtű, gömbölyű, áttetsző ovális vagy ellipszoidális konídiumok képződnek. Malátaagaron a növedék bolyhos, fehér, 1–2 mm magas, majd, az erőteljes konídiumkiépződés időszakában már porszerű vagy mészszerű, fehér vagy krémszínű lehet. A hátoldala színtelen. A légmicéliumok a fialidokkal külön-külön, lazán örvökben jönnek létre a hifákon, vagy gömb alakú csoportosulások, illetve kötegek képződnek (3. ábra). A fialidok alakja lehet szélesen palackszerű, vagy megnyúlt, a csúcson keskeny nyakba szűkülő ágacskákat mutató, amelyek végén az első konídium fog megjelenni. A második konídium megjelenésére oldalról lehet számítani, az első alatt, oly módon, hogy az első oldalra fog tolódni. Ennek eredményeképp jön létre a fialid végén a párszorosan meghajlott nyak, a legidősebb, legkorábban kifejlődött konídiummal a csúcson. A konídiumok könnyen le tudnak válni és visszamarad a megtört nyak (Fassatióvá, 1984).



3. ábra: A *Beauveria bassiana* konídiumtartói és a konídiumok (<http4>)

A *B. bassiana* esetében a gazdarovarok fertőzése általában a külső bőrfelülethez való tapadással és behatolással történik. A gomba többféle enzimet termel a gazdarovar kutikulájának lebontása érdekében (Gupta és mtsai, 1995). A gazdarovarok fertőzésében szerepet játszó indukálható enzimek közé tartoznak a kitinázok, lipázok és proteázok. A *B. bassiana* csíratömlői behatolnak a kutikulába és az epidermiszbe, majd a gazdarovar belső testürege felé nőnek. A rovgazda kutikulájába való behatolást követően a *B. bassiana* hifákkal szaporodik tovább a gazdaszervezetben (Hung és Boucias, 1992).

A korábban felsorolt tulajdonságokon kívül a közelmúltban felfedezték, hogy számos entomopatogén gomba további szerepet tölt be a természetben, például növényi endofitonként, növényi kórokozók antagonistájaként, bizonyos esetekben növényi növekedést serkentőként is, mindezek mellett hasznos szereplői a rizoszférának (Vega és mtsai, 2009).

3. Anyag és módszer

A dolgozat alapjául szolgáló kísérleteket a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Vadgazdálkodási és Természetvédelmi Intézetének Állattani és Ökológiai Tanszékén végeztem el.

3.1 Az *Eisenia fetida* faj laboratóriumi tenyésztésének létrehozása és fenntartása

Az *Eisenia fetida*, másnéven közönséges trágyagiliszta egy epigeikus giliszta faj, amelyet számos kísérletben felhasználnak, mint tesztállat. A kísérleteimhez használt egyedek az Állattani és Ökológiai Tanszék tenyésztéséből származtak, amelyek alapjául a veszprémi Charles River Laboratóriumból beszerzett állatok szolgáltak. A tenyésztet a számára ideális 20 ± 2 °C hőmérsékleten tartottuk.

A tenyésztet kialakításában fontos szerepet töltött be az a közeg, amelyben tartottam az állatokat. Számos kritériumnak kell megfelelnie a trágyának ahhoz, hogy megfelelő környezet tudjon biztosítani a gyűrűsférgek számára. A trágya begyűjtésének helye Csévharaszton volt, a Szabina Lovasudvar jóvoltából. A gyűjtést megelőzően a lovak féreghajtása minimum 2 hónappal korábban kell történjen, ugyanis a használt állategészségügyi szerek és gyógyszerek befolyásolhatják a gyűrűsférgek életben maradását. Meg kell továbbá említenem azt is, hogy az ürülék gyűjtésekor figyelembe kellett vennem, hogy az még lehetőleg friss legyen, ezzel is elkerülve annak a lehetőségét, hogy más, az adott haszonállatfaj trágyáját kedvelő és abban élő szervezetek (például kétszárnyúak) beszennyeznék a mintákat. Ezt követően a trágya kezelése következett. A tárolás -20 °C-on történt, amelynek időtartama 1 és 6 hónap között mozgott. A lefagyasztott trágyát kiolvastottam, majd egy jól záródó, 28×38×22 cm méretű, 15 literes ürtartalmú műanyag dobozba tettem, melybe a trágyagilisztákat is belehelyeztem (4. ábra). 1–2 havonta, a trágya fogyásától és állapotától függően, friss trágyát adtam a közeghez.



4. ábra: *Eisenia fetida* trágyagilisztá tenyésztet (saját fotó)

3.2 A *Porcellio scaber* faj laboratóriumi tenyésztetének létrehozása és fenntartása

A kísérletekhez használt érdes pinceászka (*Porcellio scaber*) tenyésztet alapját a 2019-ben egy monori komposztálóból gyűjtött egyedek alkotják. A begyűjtést követően 28×38×12 cm-es, 8,5 l űrtartalmú dobozban voltak tartva az ászkarákok. A dobozokban kialakított közeg Florimo virágföldet, tölgyfakérget és korai juhar (*Acer platanoides*) avart tartalmaz. Továbbá tojánhéj szolgál búvóhely gyanánt az állatok számára, és szépiacsont is került elhelyezésre a dobozokba, mint kalciumforrás (5. ábra). A tenyésztet egyedeinek etetése hetente kétszer történt. Az egyik etetésnél száraz eleséget kaptak, amely többnyire lemezes haltáp (Aquatica Nature Code Energy díszhal eleség), vagy saját keverésű táp, melynek összetétele teljeskiőrlésű liszt, kukoricaliszt, darált lenmag, darált héjas tökmag és spirulina por 6:6:4:2:1 arányban összekeverve. A másik etetésnél nedves eleséget kaptak enni az állatok, ami többnyire alma, cukkini, sárgarépa vagy pedig uborka.



5. ábra: *Porcellio scaber* érdes pinceászka tenyészet (saját fotó)

3.3 Entomopatogén gombák beszerzése és felszaporítása

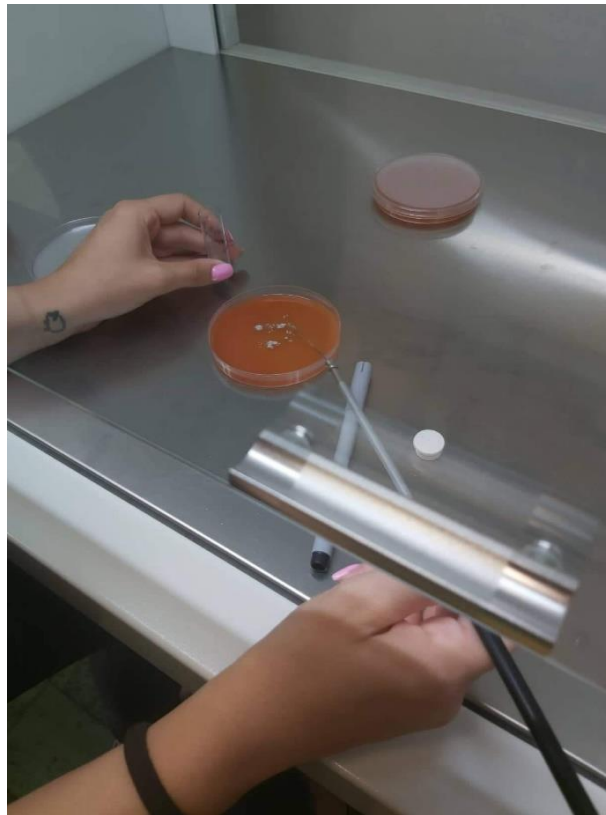
A kísérlet során a *Trichoderma asperellum* gombafajt használtam, mivel könnyen beszerezhető, kereskedelmi forgalomban is kapható Trifender Pro, illetve Trifender WP mikrobiológiai készítmény. A különbség a kettő között, hogy előbbinél a *T. asperellum* T34-es, míg utóbbi esetben a T1-es törzset tartalmazza a készítmény. Hatóanyag tartalma legalább $1,1 \times 10^8$ CFU (colony-forming unit)/g. Ez a mikrobiológiai készítmény nedvesíthető por formájában érhető el, a hordozóanyaga perlit.

A kísérletek során használt másik gombafaj a *Beauveria bassiana*, entomopatogén tulajdonságokkal rendelkező gomba volt. Ez a gomba is könnyen beszerezhető, kereskedelmi forgalomban Artis Pro néven kapható mikrobiológiai készítmény. A hatóanyag tartalma legalább $1,5 \times 10^8$ CFU/g. Ez a készítmény is nedvesíthető por formájában érhető el, a hordozóanyaga szintén perlit.

A gombafajok felszaporítását paradicsom táptalajon végeztem. Egyrészt az Integrált Növényvédelmi Tanszék munkatársainak előzetes tapasztalatai alapján a szóban forgó gombafajok jól fejlődnek ezen a táptalajon, továbbá konzulenseim tapasztalata szerint nem ártalmas a kísérletben használt tesztorganizmokra. Az etetési kísérletben használt paradicsom táptalajt az alábbiak szerint készítettem el: a VWR cég által forgalmazott boroszilikát 3.3 folyadékövegbe kimért 10 g agarhoz hozzáadtam 70 g Arany fácán paradicsomsűrítményt (ref.

22–24%), és végül ezt a keveréket hígítottam fel 500 ml vízzel. Az így létrejött elegyet 15 percig 120 °C-on 1 atm túlnyomáson sterilizáltam. A sterilizálás befejeztével a már hűlő keveréket 9 cm-es átmérőjű steril Petri-csészékbe mértem és öntöttem ki. A porciózást egy BBS-V800 típusú lamináris fülkében végeztem el annak érdekében, hogy ne kerüljön egyéb mikroorganizmus a táptalajra, amely befolyásolhatja a kísérletem sikerességét. A következő lépésben hagytam a már kiöntött táptalajokat kihűlni és megdermedni, hogy majd később rá tudjam oltani a használt gombafajt.

A gombákat szintén a BBS-V800 típusú lamináris fülke alatt szélesztettem rá a kihűlt táptalajokra. A szélesztés során elsőként az oltókacs 96%-os etanolban történő fertőtlenítését végeztem el, majd a Bunsen-égő lángja fölé tartva vörös izzásig hevítettem az eszközt. Azért volt erre szükség, mert a lamináris bokszt alatt igyekeztem a lehető legcsíra mentesebb környezetet biztosítani kísérlet ezen szakaszához. Az oltókacs lehűtése után rávittem a gombaport a paradicsom táptalajokra (6. ábra) és lefedtem azokat a Petri-csészékhez tartozó tetőkkel. Ezt követően fénytől védett helyen tároltam a mintákat, majd hozzávetőlegesen 4–6 nap után már látni lehetett a megjelenő gombahifákat a táptalajokon (7. ábra).



6. ábra: A *Trichoderma asperellum* és *Beauveria bassiana* oltása paradicsomos táptalajra
(fotó: Molnár Amelita)



7. ábra: Kifejlődött *Trichoderma asperellum* gombatelepek (saját fotó)

3.4 Etetési kísérletek beállítása *Eisenia fetida* fajjal

A kísérlet megkezdése előtt a tenyészetekből kikerülő egyedeket meghatározott szempontok szerint kellett kiválogatnom (8. ábra). A vizsgálatban csak azok az egyedek vehettek részt, amelyeknek a tömege 300-600 mg között volt, továbbá ivarérettek voltak és rendelkeztek nyereggel. A kísérletre való felkészítést több lépésben végeztem el. Elsőként a válogatás során lemostam a kiválasztott egyedeket, annak érdekében, hogy semmilyen egyéb a tápközegükben megtalálható, és a kísérlet szempontjából káros anyagot ne vigyenek át a vizsgálati közegbe. A mosás után egy külön dobozban helyeztem el őket, amelybe vízzel átitatott szűrőpapírt tettem (9. ábra). A szűrőpapír biztosította a megfelelő nedvességet az állatok számára. Ezt követően 24 óráig éheztettem a kísérletben résztvevő egyedeket. Az éheztetés során a természetes anyagcsere folyamatoknak megfelelően bélsarat is ürítettek. Ennek az a jelentősége, hogy a kísérletem során a tápcsatornájukban már ne legyen semmilyen idegen anyag, amely negatívan befolyásolhatná a vizsgálatot, illetve, az etetési kísérlet során a számukra kihelyezett gombafajt nagyjából maradéktalanul elfogyasszák.



8. ábra: A kísérleti egyedek kiválogatása (fotó: Petrikovszki Renáta)



9. ábra: A kiválogatott egyedek elhelyezése (saját fotó)

A kísérletben használt mesterséges közeg OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) szabvány szerinti talaj volt, amely közelebb áll összetételben a természetes talajokhoz, mint a szűrőpapírok vagy a különböző agar táptalajok (Hofman és mtsai, 2009). A talaj pontos receptjét az OECD 207 protokoll tartalmazza: 10% tőzeget kevertem össze 20%

kaolinnal és 69% homokkal, valamint a pH beállítása végett 1% CaCO_3 is került az összetevők közé. Az OECD protokoll leírásától minimálisan eltértem. Mivel ezek a tesztek toxikológiai vizsgálatokra alapoznak, ahol a trágyagiliszták 14 napig a közegben maradnak, nem volt indokolt az általuk javasolt talaj mennyiséget (750 g) és egyedszámot (10 trágyagiliszta) követnem.

A kikevert talajból ezután kimértem 200 g mennyiséget a kísérlet helyéül szolgáló műanyag dobozokba, amelyeknek a mérete 13,5×9,5×3,5 cm, azaz összesen 450 ml az űrtartalma. Ahhoz, hogy ez a mesterséges közeg vízmegtartóképessége 40–60% legyen, a kimért talajokhoz egyenként 37 ml vizet is adtam. Ez a mennyiség pont megfelelő ahhoz, hogy kellően nedves közeget biztosítson a giliszták számára, hasonlóan, mint ha a természetes közegükben lennének. A dobozokba egyenként 5-5 darab giliszta került (10. ábra).



10. ábra: A beállított etetési kísérlet egy doboza (saját fotó)



11. ábra: A beállított etetési kísérlet (saját fotó)

Kezelésként 5 ismétlést használtam. A kontroll dobozokba 2-2 darab gombamentes paradicsom táptalajkorongot helyeztem, melyet 1 cm átmérőjű dugófúróval vágtam ki. A további 5 kezelésben egységesen 2-2 gombakorongot helyeztem el (11. ábra). Ezek a kezelések abban tértek el, hogy a dobozban elhelyezett állatok számára 1, 2, 3, 4 vagy 5 napot biztosítottam, hogy a gombakorongból táplálkozzanak. Az első nap az 1 napos kezelés mellett a kontrollcsoportot is felszámoltam. A bontás során a kísérleti közegből való kivétel után lemostam az állatokat és átnedvesített szűrőpapírral bélelt Petri-csészékbe tettem őket egy napra. Ezt a folyamatot az összes csoportnál megismételtem. A kivételt követő napon hajtottam végre a giliszták által ürített bélsár szélesztését speciális, *Trichoderma*-szelektív bengálrózsás táptalajra.

A bengálrózsás táptalaj elkészítése hasonlóan történik, mint a paradicsom táptalaj esetében, csak az összetevők különböznek. A táptalaj összetétele a következő volt: 16 g bengálrózsás agar (Scharlau Rose Bengal Chloramphenicol Agar), amelyhez hozzáadtam 500 ml vizet. A sterilizálás befejeztével a már hűlő keveréket 9 cm-es átmérőjű steril Petri-csészékbe mértem és öntöttem ki. A Petri-csészébe való kimérést a BBS-V800 típusú lamináris fülke alatt végeztem.

A szélesztés folyamatát szintén a BBS-V800 típusú lamináris fülke alatt végeztem el. Az adott napi bontásból, minden ismételtségből 1-1 Petri-csészét, vagyis összesen 5 mintát

készítettem. A minták elkészítése során a Petri-csészékben található ürülekéből az oltókacs segítségével vettem ki kisebb darabokat és azokat ötszög alakban rendeztem el (12. ábra).



12. ábra: Az ötszög alakban szélesztett giliszta ürülek (saját fotó)

Figyelve a megfelelő mikrobiológiai környezetre, az oltókacsot minden alkalommal fertőtlenítettem először 96%-os alkoholban, majd a Bunsen-égő lángjába tartva vörös izzásig hevítettem. A felhevült eszközt ezután a még nem fertőzött táptalajon lehűtöttem, hogy a hő ne okozzon károsodást a bélsárban található gomba szaporítóképleteiben (13. ábra).

Annak érdekében, hogy ellenőrizzem a kereskedelmi forgalomból vásárolt készítmények, illetve a bengálrózsás szelektív táptalaj „működőképességét”, mind a *Trichoderma*, mind a *Beauveria* készítményekből direkt szélesztést is végeztem a szelektív táptalajra.

A szélesztést megismételtem mind a kontroll csoportnál, mind pedig az 5 fertőzött ismétlésben. A munka végeztével az elkészült mintákat száraz, sötét helyen tároltam addig, ameddig a gomba növekedésnek nem indult rajtuk. Ez nagyjából 7–10 nap alatt zajlott le. Ezután a kinőtt *Trichoderma* gombatelepek mennyiségét Petri-csészénként meghatároztam.



13. ábra: A gilisztaürülék szélesztése bengálrózsás táptalajra (fotó: Molnár Amelita)

Annak érdekében, hogy meg lehessen bizonyosodni, hogy valóban a *T. asperellum* telepeit lehet látni a szelektív táptalajokon, mikroszkópos vizsgálatokat kellett végezni. Fénymikroszkóp (VWR VisiScope DBL124) alatt megvizsgáltam a kinőtt telepeket, konídiumokat és konídiumtartókat. A konídiumokról készült felvételek Euromex ImageFocus Alpha szoftverrel készültek 40x-es nagyítással.

3.5 Etetési kísérletek beállítása *Porcellio scaber* fajjal

A kísérlet megkezdése előtt a tenyészetből kikerülő érdes pinceászka egyedeket meghatározott szempontok szerint kellett kiválogatni. A vizsgálatban azon egyedek vehettek részt, amelyek tömege 45–55 mg között volt (14. ábra), és nem voltak láthatók a hasi részükön peték.

A kiválogatás után előkészítettem a kísérlet helyéül szolgáló gipsztégelyeket, melyek űrtartalma 32 cm³. A beállítást megelőző napon vízbe állítottam a gipsztégelyeket annak érdekében, hogy megszívják magukat és kissé nyirkos helyet lehessen biztosítani az ászkarákok számára. A téglében búvóhelyként kettévágott műanyag kémcsőtartót alkalmaztam. A gipsztégelyekbe egyenként 3-3 darab ászkarák került (15. ábra).



14. ábra: A *Porcellio scaber* teszt faj mérése (saját fotó)



15. ábra: A *Porcellio scaber* elhelyezése a kísérleti helyen (saját fotó)

Kezelésként 5 ismétlést használtam. A kontroll tégelyekbe 3-3 darab gombamentes paradicsom táptalaj korongot, vagy 3-3 darab gombamentes uborka korongot helyeztem el, amelyeket 1 cm átmérőjű dugófúróval vágtam ki. A további kezeléseknél egységesen 3-3 gombakorongot helyeztem el. A kezeléseknél az volt a különbség, hogy melyik entomopatogén gombafajt kapják az ászkarák, illetve, hogy az adott gombafajt készítményként, vagy gombás táptalaj korongként juttattam eléjük. Kétféle entomopatogén

gombafajt használtam a kísérlet során, a *T. asperellum* T1-es és T34-es törzsét, valamint a *B. bassiana* BOV1 törzsét. A kísérlet ideje egységesen 5 napig tartott mindegyik kezelésnél. A bontás során az állatok által ürített bélsarat szélesztettem rá bengálrózsás táptalajra.

A szélesztés folyamatát a BBS-V800 típusú lamináris fülke alatt végeztem el. A bontásokból, mindegyik gipsztégelyből 1-1, vagyis összesen 5 mintát készítettem. A téglékben lévő ürülekéből az oltókacccsal vettem ki kisebb darabokat és azokat ötszög alakban rendeztem el a táptalajon (16. ábra). A gomba megjelenése után megállapítottam a kinőtt *Trichoderma* vagy *Beauveria* telepek számát.



16. ábra: Az ötszög alakban szélesztett érdes pinceászka ürülék (saját fotó)

3.6 Visszafertőzőési kísérlet közönséges lisztbogár lárvákkal

A trágyagilisztás etetési vizsgálatok befejezése után azt vizsgáltam, hogy vajon a trágyagiliszták emésztőrendszerén áthaladt gombák szaporítóanyagából kinőtt telepek képesek-e arra, hogy újr fertőzzék a célszervezeteket. A kifejlődött telepekből mintákat vettem és paradicsomos táptalajra oltottam azokat. A megfigyelés során közönséges lisztbogár (*Tenebrio molitor*) lárvákat használtam, amelyek a köztudatban lisztukac néven vannak jelen. A kísérlethez kiválasztott faj tenyésztete és egyedei az Állattani és Ökológia Tanszékről származnak (17. ábra). Alapvetően korpát, lisztet, zabpelyhet, zöldségeket és gyümölcsöket tartalmaz az étrendjük.



17. ábra A *Tenebrio molitor* tenyészet (saját fotó)

A kísérlet megkezdése előtt kiválogattam a lisztbogár tenyészetből azokat az egyedeket, amelyek részt vettek a megfigyelésben. A kísérlet során 3 csoportot állítottam be, mindegyik csoportnál 5 ismételéssel és ismétlésenként 3 darab állattal. A három csoport között az volt a fő különbség, hogy milyen formában kapták meg a *T. asperellum* gombákat. Az első csoport volt a kontroll csoport, ezek semmilyen szinten nem érintkeztek a gombával, a kísérlet alatt sima, kontroll paradicsomos táptalaj korongokat kaptak élelem gyanánt. A második csoport a kutikuláján keresztül találkozott a gombával, vagyis az újonnan kifejlődött gombatelepeken meghempergettem azokat. Táplálékként ezek az egyedek is paradicsomos táptalaj korongokat kaptak. Végül a harmadik csoport táplálékként jutott hozzá a *Trichoderma* gombához: a trágyagilisztás etetési kísérlet után kinőtt – a giliszták emésztőszervrendszerén átjutott – *T. asperellum*-mal benőtt paradicsom táptalaj korongot kaptak. Az egyes csoportokban ismétlésenként 3 darab korongot kaptak enni. A kísérlet helyszínéül műanyag, henger alakú edények szolgáltak, amelyek 5 cm magasak, 6 cm szélesek és a térfogatuk nagyjából 110 cm³. Ezt követően 1–3 naponta ellenőriztem a kísérletet, amely egy hónapig tartott. A megfigyelés alatt igénytől függően háromszor kaptak enni az állatok, korpát, almát és répakorongokat.

Egy hónap elteltével a lárvák fejlődési stádiumait (lárva, báb, imágó), illetve az elpusztult egyedek számát is feljegyeztem.

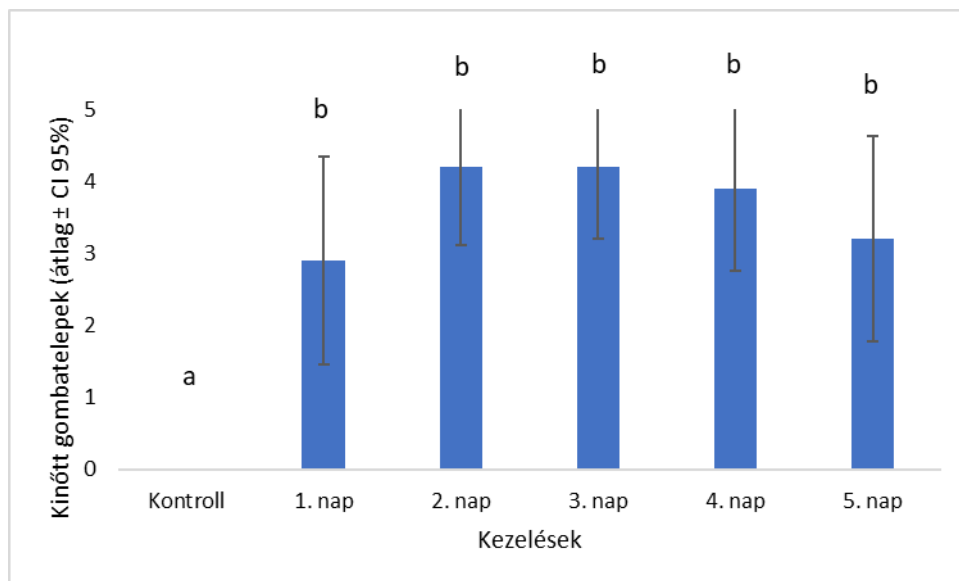
3.7 Statisztikai értékelés

A kísérletek során kapott adatok feldolgozásához a Microsoft 365 Excel programját (2303 verzió) használtam. Az adatok kiértékeléséhez a PAST3 statisztikai programot (Hammer és mtsai 2001) alkalmaztam. Ezen belül a hagyományos egytényezős varianciaanalízisben (ANOVA) $p \leq 0,05$ szignifikanciaszintet, illetve Tukey-féle vagy Mann-Whitney post hoc tesztet alkalmaztam. A grafikonokat szintén a Microsoft 365 Excel programban (2303 verzió) készítettem el.

4. Eredmények

4.1 Etetési kísérlet *Eisenia fetida* fajjal

Az etetési kísérlet során a kontroll csoport ürülékéből, vagyis azok az egyedek, amelyek nem táplálkoztak a *T. asperellum* T34-es törzsének gombatelepjeiből, nem nőtt ki 7–10 nap elteltével a keresett gomba. Ellenben már 1 nap táplálkozás után izolálható volt a *T. asperellum* az *E. fetida* trágyagiliszta ürülékéből. A gombatelepek mennyisége viszont szignifikánsan nem különbözött az eltelt napokkal arányosan (18-19. ábra, 1. melléklet).

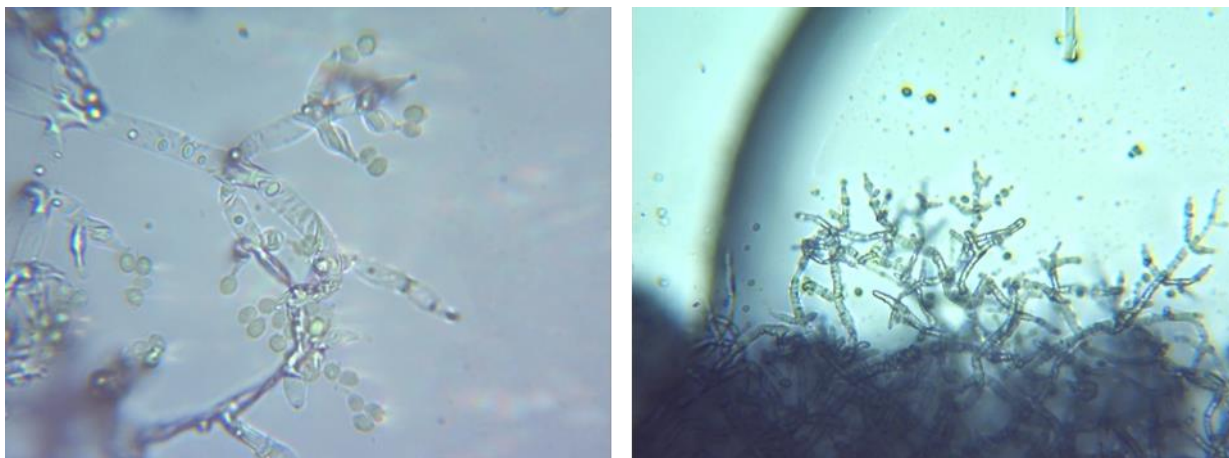


18. ábra: *Eisenia fetida* trágyagiliszta ürülékéből izolált *Trichoderma asperellum* T34 gombatelepek megjelenése (átlag ± CI 95%) az eltelt napok függvényében. (Jelmagyarázat: CI 95%: 95% Konfidencia intervallum; ANOVA, Mann-Whitney post hoc teszt, az azonos betűk a szignifikáns ($p \leq 0,05$) különbség hiányát jelzik)



19. ábra: A kinőtt gombatelepek (saját fotók)

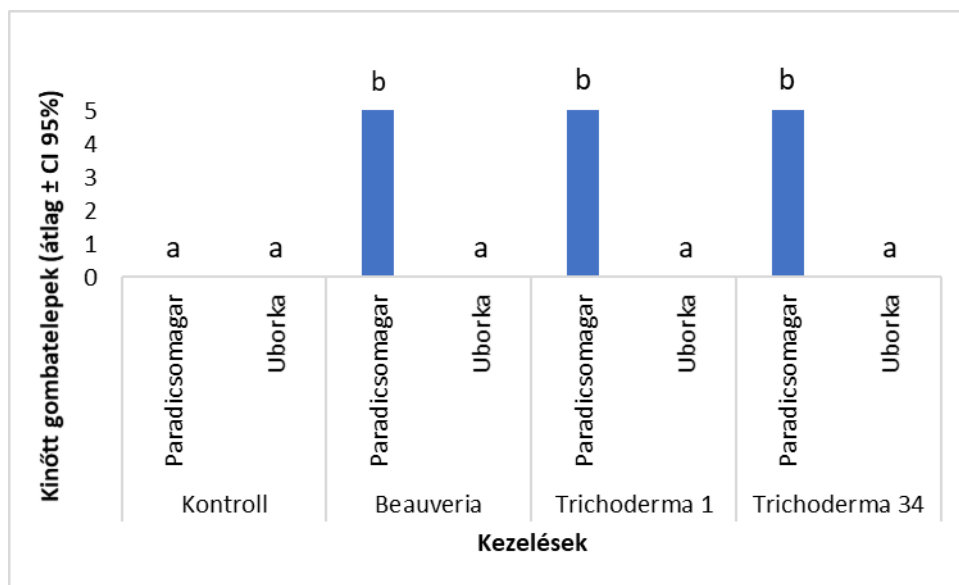
A *Trichoderma asperellum* gomba jelenlétét speciális és egyedi kinézetű spóratartói alapján fénymikroszkópos vizsgálatokkal azonosítottam (20. ábra).



20. ábra: A *Trichoderma asperellum* konídiumtartói és konídiumai mikroszkóp alatt (40x-es nagyítás) (saját fotók)

4.2 Etetési kísérlet *Porcellio scaber* fajjal

Az érdes pinceászka esetében a kontroll állatok esetében nem nőtt ki egyik keresett gombafajra hasonlító telep sem. Szignifikáns különbség ($p=1,594 \cdot 10^{-5}$) mutatkozott azonban abban, hogy milyen formában (készítménybe forgatott uborkakorong vagy paradicsom táptalajon kinőtt gombatelep) biztosítottam számukra a táplálékot. Utóbbi esetben, vagyis a paradicsom táptalajon kinőtt gombatelepek fogyasztásakor minden Petri-csészében mind az öt pontban megjelentek a keresett gombatelepek (21–24. ábra, 2. melléklet).



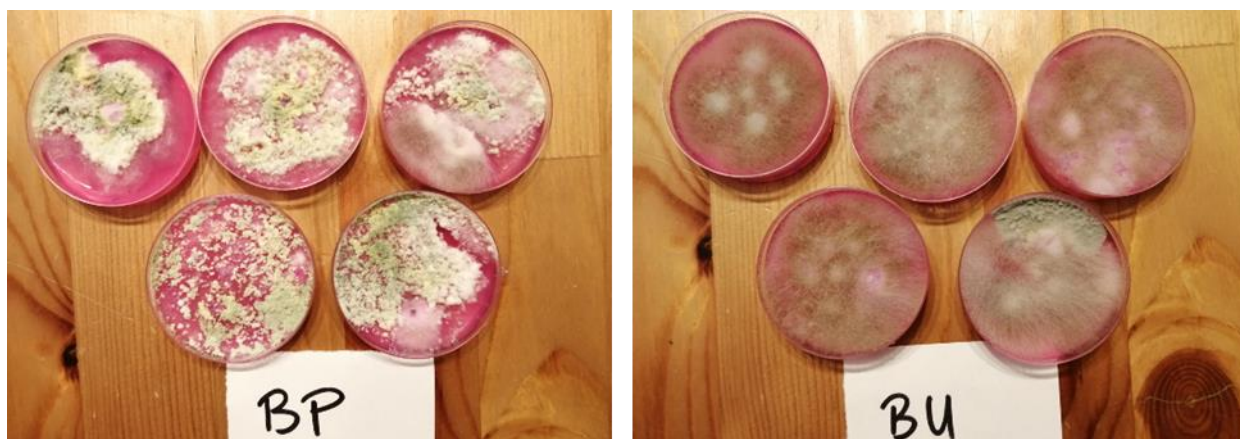
21. ábra: *Porcellio scaber* érdes pinceászka ürülékéből izolált *Beauveria bassiana*, *Trichoderma asperellum* T1 és T34 gombatelepek megjelenése (átlag ± CI 95%) az eltelt napok függvényében. (Jelmagyarázat: CI 95%: 95% Konfidencia intervallum; ANOVA, Mann-Whitney post hoc teszt, az azonos betűk a szignifikáns ($p \leq 0,05$) különbség hiányát jelzik)



22. ábra: A *Trichoderma asperellum* T1-es törzsének kínőtt telepei (Jelmagyarázat: P: paradicsom táptalajon kínőtt gombatelep; U: készítménybe forgatott uborkakorong) (fotó: Petrikovszki Renáta)

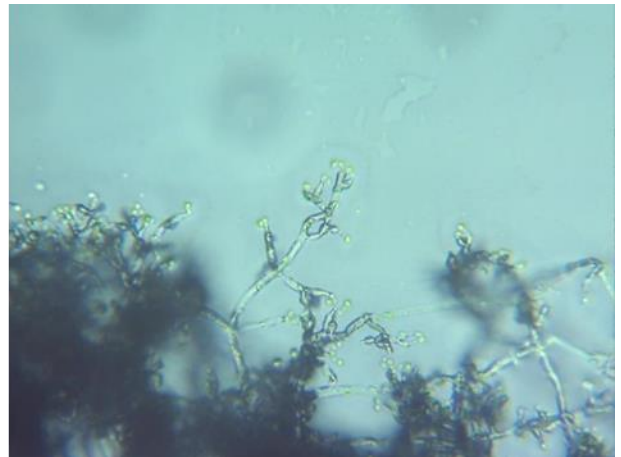
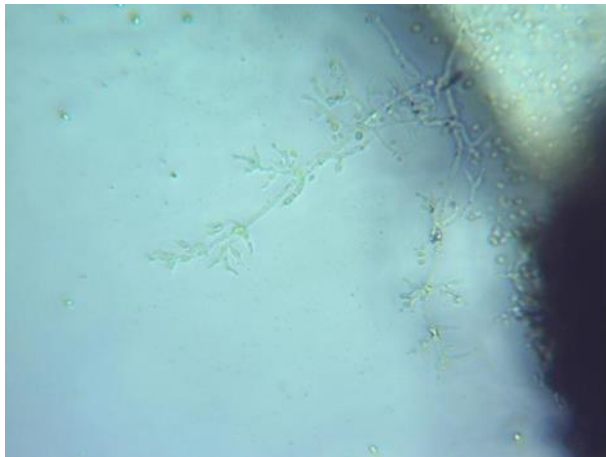


23. ábra: A *Trichoderma asperellum* T34-es törzsének kinőtt telepei (Jelmagyarázat: P: paradicsom táptalajon kinőtt gombatelep; U: készítménybe forgatott uborkakorong)
(fotó: Petrikovszki Renáta)

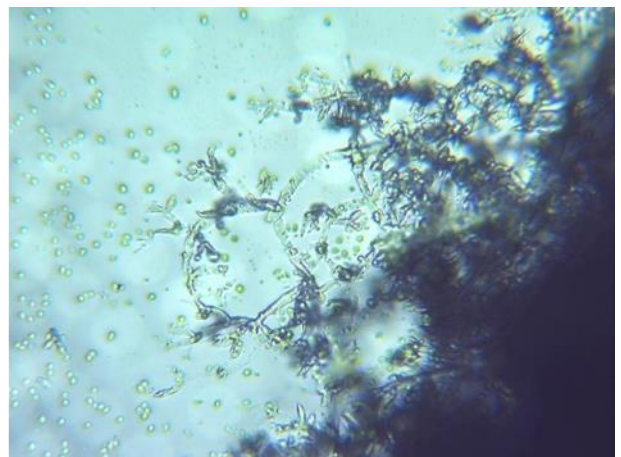


24. ábra: A *Beauveria bassiana* BOV1 törzsének kinőtt telepei (Jelmagyarázat: P: paradicsom táptalajon kinőtt gombatelep; U: készítménybe forgatott uborkakorong)
(fotó: Petrikovszki Renáta)

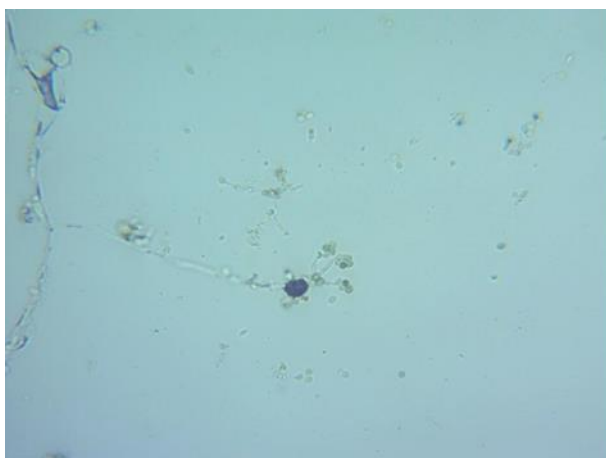
Hasonlóan a trágyagilisztás kísérlethez, ebben az esetben is megvizsgáltam fénymikroszkóppal azokat a telepeket, amelyek hasonlítottak vagy a *T. asperellum*-ra, vagy pedig a *B. bassiana*-ra jellemző kinézettel. Jelen esetben a T1P, T34P és BP jelű táptalajon lévő telepekből vettem mintákat. A fénymikroszkóp alatt azonosítottam a kinőtt telepeket, konídiumokat és konídiumtartókat (25–27. ábra).



25. ábra: A *Trichoderma asperellum* T1-es törzsének mikroszkópos felvétele (40×-es nagyítás) (saját fotók)



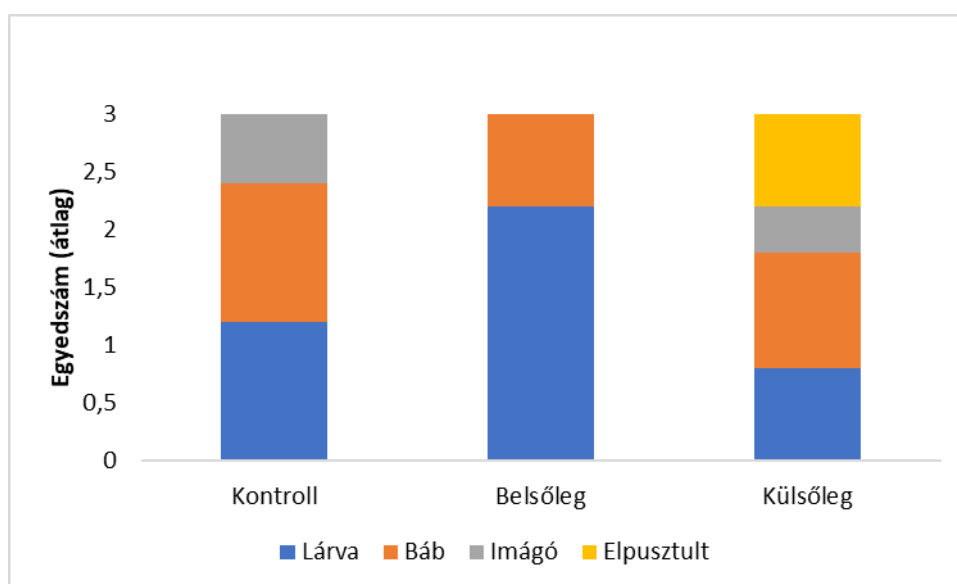
26. ábra: A *Trichoderma asperellum* T34-es törzsének mikroszkópos felvétele (40×-es nagyítás) (saját fotók)



27. ábra: A *Beauveria bassiana* BOV1 törzsének mikroszkópos felvétele (40×-es nagyítás) (saját fotók)

4.3 Visszafertőzőési kísérlet közönséges lisztbogár lárvákkal

Egy hónap eltelte után a kontroll esetében $1,2 \pm 0,7$ lisztbogár egyed volt lárvastádiumban, ami nem különbözött jelentősen sem a táplálkozás ($p=0,118$), sem a beforgatás ($p=0,671$) révén kezelt egyedektől. A két kezelésmód között viszont szignifikáns különbség ($p=0,026$) mutatkozott: több egyed ($2,2 \pm 0,7$) maradt lárvastádiumban azok közül, melyek táplálékként jutottak a gombához, mint azok, melyek a kutikulájukon keresztül érintkeztek a *T. asperellum*-mal ($0,8 \pm 0,4$). A bábállapotban lévő egyedek között azonban nem volt eltérés a kezeléseket és kontroll között. Imágókat csak a kontroll és a gombával külsőleg érintkező kezelés esetében figyeltem meg, azonban szignifikáns különbség ($p=0,905$) nem mutatkozott az egyedek számában. Elpusztult egyedeket ($0,8 \pm 0,7$) viszont kizárólag a gombával kutikulájukon keresztül érintkező kezelés esetében találtam (28. ábra, 3. melléklet).



28. ábra: *Tenebrio molitor* fejlődési stádiumainak és elpusztult egyedeinek mennyisége (átlag) az *Eisenia fetida* trágyagiliszta ürülékéből izolált *Trichoderma asperellum* T34 gombatelepekkel végzett visszafertőzés után.

5. Következtetések és javaslatok

5.1 Etetési kísérlet *Eisenia fetida* fajjal

Az etetési kísérletek alapján bebizonyosodott, hogy a vizsgált *Trichoderma asperellum* faj sikeresen terjed *Eisenia fetida* trágyagiliszta faj bélrendszerében, ami összhangban van Tiwari és Mishra (1993) eredményeivel, habár a szerzőpáros nem említi, hogy mely gilisztafaj ürülékéből izolálták a *Trichoderma* fajokat. Feltűnő, hogy már az egy napos, szelektív táptalajra szélesztett ürülékből is kinőtt a gomba, tehát a tápcsatornán gyorsan áthalad. Ugyanakkor a napok elteltével nem nőtt a gombatelepek mennyisége, vagyis azzal, hogy több napig táplálkozhattak a gombából, nem javítja a gomba kinövésének esélyeit.

Ennek megfelelően a jövőben érdemes lenne megvizsgálni, hogy mennyi idő alatt ürül ki a giliszta tápcsatornájából a gomba. Ehhez olyan kísérletet lenne érdemes végezni, amelyben egy nap táplálkozás után naponta oltjuk le az ürüléket.

Medina-Sauza és munkatársai (2019) összefoglaló tanulmánya szerint egyes epigeikus gilisztafajok, így például pont az *E. fetida*, ürüléke indukálja a mikrobiális biomassza növekedését a talajban, noha ennek a mértéke az idővel arányosan erősen lecsökken. Ennek ellenére a gilisztaürülékek nemcsak mikrobiális „hot spot”-okat jelentenek a talajban, de jelentős biogeokémiai határfelületek is (Vidal és mtsai, 2019), ezzel is szélesítve az ökoszisztéma-szolgáltatásaik spektrumát.

Az ökoszisztéma szolgáltatásokat illetően, Brown (1995) leírta, hogy a földigiliszták az elfogyasztott gombapopulációkra növekvő, csökkentő vagy semleges hatással lehetnek. A kísérleteim azt bizonyították, hogy az állatok bélrendszerén áthaladt gombakonídiumokra semleges hatással voltak az állatok szervezetében található különböző anyagok, ugyanis az ürülékükből sikeresen ki tudtak nőni a vizsgált gombák telepei. Továbbá korábbi vizsgálatok (Dash és mtsai, 1979; Striganova és mtsai, 1989) alapján kiderült, hogy a spórák nem emésztődtek meg, miközben áthaladtak a földigiliszta tápcsatornáján. Ezt is bizonyítja az a tény, hogy sikerült a használt gombatorzseket izolálni a bélsárból szélesztett mintákból, illetve a csírázás és kinövési ideje a gombáknak nem maradt el szignifikánsan a készítményből szélesztett tiszta gombatorzsek csírázási és megjelenési idejéhez képest. Azt a következtetést lehet tehát levonni az elvégzett kísérletekből, hogy a földigiliszták képesek olyan ökoszisztéma szolgáltatásokat nyújtani, amelyekkel az egyes gombapopulációk fajait terjeszteni képesek akár a természetben is.

5.2 Etetési kísérlet *Porcellio scaber* fajjal

Eredményeim alapján elmondható, hogy az érdes pinceászka bélcsatornájában áthaladva is életképes marad mindhárom vizsgált gombatörzs. Ugyanakkor azt tapasztaltam, hogy szignifikáns különbség volt a tápláléknak felkínált gomba formájában.

Ha a táptalajon kinőtt gombatelepből fogyasztottak, akkor az ászkák ürülékéből ki tudtam mutatni a vizsgált *Beauveria* és *Trichoderma* fajokat. Ezzel szemben magát a készítményt fogyasztva egyáltalán nem nőttek ki ezek a gombák az ürülékből. A különbség abból adódhatott, hogy az uborkakorong a készítménybe volt forgatva, amiben a konídiumok nyugalmi állapotban lehetnek és az ászka tápcsatornájában eltöltött idő alatt még nem tudtak aktiválódni. Egy másik ok lehet például az is, hogy az ürülékből kinövő egyéb gombafajok jobb kompetíciós képességgel rendelkeznek, így az agaron gyorsabban telepeket képezve elnyomhatták az entomopatogén gombatörzseket. Ennek viszont ellentmond az a tapasztalatom, hogy mind a készítményből szélesztett tiszta gombatörzsek, mind pedig az ürülékből kinőtt telepek körülbelül azonos idő alatt, 5-7 nap után jelentek meg a táptalajokon.

A trágyagilisztával végzett kísérlethez hasonlóan ászkafajok esetében is érdemes volna megvizsgálni, hogy mi az a legkevesebb idő, ami alatt felveszik a gombát és mennyi idő alatt ürül ki a szervezetükből.

Az ökoszisztéma szolgáltatások esetében, ahogyan azt már Crowther és munkatársai (2013) leírták, az ászkarákok erős legelési nyomást gyakorolhatnak a gombák micélium rendszereire, ezáltal a gombaközösségek fontos szabályozói lehetnek. A kísérleteim során is bebizonyosodott, hogy az érdes pinceászka elfogyasztja a vizsgált gombafajokat, ugyanakkor a gombák konídiumai életképesek maradnak az elfogyasztás után, és a bélsárral ürülve újra kinőhetnek. Tehát levonható az a következtetés, hogy az ászkarákok az ökoszisztéma szolgáltatásokat nyújtó szerepük kiterjedhet arra, hogy táplálkozás révén potenciális szabályozói és terjesztői lehetnek egyes entomopatogén gombatörzseknek.

5.3 Visszafertőzőési kísérlet közönséges lisztbogár lárvákkal

A *T. asperellum* entomopatogén hatásai lisztbogárra korábbi szakirodalomból már ismertek (Shakeri és Foster, 2006). Kísérletemben viszont csak azoknál az egyedeknél tapasztaltam elhullást, ahol a lisztbogár lárvák a gombával kutikulájukon keresztül érintkeztek. Ennek oka az lehet, hogy természetes körülmények között is a kültakarón keresztül történik a fertőzés.

Annak ellenére, hogy kizárólag ennél a kezelésnél voltak elpusztult egyedek, számuk alacsony volt, tehát nem lehet teljes mértékben sikeresnek nevezni a visszafertőzést. Zhou és munkatársai (2022) kísérletében az *E. fetida* habár képes volt terjeszteni a *B. bassiana* entomopatogén gombát a talajban, az életképes spórák mennyiségét ezzel egyidőben csökkentette. Valószínűsíthető, hogy a trágyagiliszta bélrendszerén áthaladva a *T. asperellum* esetében is lecsökkent az életképes spórák száma, így kevésbé volt képes megfertőzni a lisztbogár lárváit.

Zhou és munkatársai (2022) megfigyelésére alapozva érdekes vizsgálati irány lenne, hogy a nagyobb távolságra történő eljuttatásból származó előny, illetve a bélcsatornában csökkenő számú fertőzőképletek közötti csereviszony milyen előnyt biztosít a gombának egy sikeres stratégia szempontjából.

A táplálékkal adott gomba ezzel szemben nem alakított ki letális fertőzést a kísérlet ideje alatt, ugyanakkor fejlődésük lassabb ütemben zajlott, mint a másik kettő csoport esetében. Adataimból tehát arra lehet következtetni, hogy az elfogyasztott, ezáltal az állat bélcsatornájába jutott *Trichoderma asperellum* gombának az egyedfejlődésük késleltető hatása volt a vizsgált célszervezetre.

Kísérleteim alapján úgy vélem, hogy a téma alaposabb megismeréséhez az etetési kísérleteket más tesztfajokon is érdemes volna elvégezni. A visszafertőzés vizsgálatánál is célszerű lenne újabb tesztfajok bevonása, ideálisan olyanoké, melyek természetes körülmények között potenciálisan találkozhatnak entomopatogén gombafajokkal.

6. Összefoglalás

Az endozoochoria során bizonyos növény- és gombafajok szaporítóképletei az állat táplálkozása során bekerülnek annak tápcsatornájába, ahol így megtörténhet a szállításuk, majd a bélsárral együtt távozva valósulhat meg a terjesztésük. Ennek egyik jelentősége, hogy így a szaporítóképletek gyorsabban és nagyobb távolságokra képesek eljutni. A földigiliszták és az ászkarákok által is nyújtott ökoszisztéma-szolgáltatások közül a kutatásomban kiemelkedően fontos szerephez jutott az entomopatogén gombák efféle terjedése, hiszen az erre irányuló tudásunk még meglehetősen hiányos az ilyen célú kutatások alacsony száma miatt. Kutatásom során arra kerestem a válaszokat, hogy laboratóriumi körülmények között egy epigeikus gyűrűsféreg (*Eisenia fetida*), valamint egy szárazföldi ászkarák (*Porcellio scaber*), mint teszt faj, képes-e a bélcsatornájában entomopatogén gombafajok (*Beauveria bassiana* és *Trichoderma asperellum*) spóráit szállítani, és ezek aztán az ürülékükkel a szabadba kerülve fertőzőképesek maradnak-e.

Az első kísérletben *E. fetida* trágyagiliszta egyedek *T. asperellum* gomba paradicsom táptalajon kinőtt telepeiből táplálkoztak öt különböző időintervallumban. A giliszták ürülékét ezt követően *Trichoderma*-szelektív bengálrózsás táptalajra oltottam. Már egy nap táplálkozás után megjelentek a *Trichoderma* telepei a táptalajon, azonban a napok elteltével nem nőtt a gombatelepek mennyisége, vagyis azzal, hogy több napig táplálkozhattak a gombából, nem javította a gomba kinövésének esélyeit.

A második kísérletben *P. scaber* érdes pinceászka fajnak kínáltam fel táplálékként *T. asperellum* T1-es és T34-es törzse mellett *B. bassiana* entomopatogén gomba BOV1-es törzsét is. A gombatörzsek mellett a táplálék típusa volt a kezelés: paradicsom táptalajra oltott gombatelep vagy uborkakorong a gombakészítménybe forgatva. Öt nap elteltével az ászkarákok ürülékét szintén szelektív táptalajra szélesztettem. Kizárólag abban az esetben nőttek ki a keresett entomopatogén gombafajok az ürülekéből, amikor a paradicsom táptalajon kinőtt gombatelepeket fogyasztották előzőleg. A készítményekbe forgatott uborkakorong elfogyasztása után az ürülekükből nem volt kimutatható a gomba jelenléte.

A harmadik kísérlet során pedig az *E. fetida* ürülékéből szélesztett *T. asperellum* gombával fertőztem vissza *Tenebrio molitor* lisztbogár lárvákat. Elpusztult egyedeket csak annál a csoportnál találtam, ahol lárvák a kutikulájukon keresztül érintkeztek a gombával.

Összességében elmondható, hogy mind a kettő, kísérletek során használt teszt faj képes endozoochoria révén terjeszteni az általam vizsgált entomopatogén gombatörzsek szaporítóképleteit. A kísérleteim alapján azt gondolom, hogy a téma mélyebb megismerése érdekében be lehetne vonni újabb teszt fajokat mind az etetési, mind pedig a visszafertőzési kísérletekhez.

7. Köszönetnyilvánítás

Ez úton szeretném megragadni az alkalmat, hogy köszönetemet fejezhessem ki mindazoknak, akik nagyban hozzájárultak ahhoz, hogy ez a diplomadolgozat elkészülhessen.

Szeretném megköszönni konzulenseimnek, Dr. Boros Gergelynek és Dr. Petrikovszki Renátának, akik szakmai tudásukkal, segítőkészségükkel, kedvességükkel és türelmükkel végig kísérték a diplomadolgozat elkészítéséhez és leadásához vezető úton.

Köszönettel tartozom továbbá az Állattani és Ökológiai Tanszék dolgozóinak, akik segítségével megvalósulhattak a dolgozathoz szükséges kísérletek.

Hálás köszönettel tartozom Molnár Amelitának, aki rengetegszer segített a kísérletek beállításában, sokszor estébe nyúlóan, és kitartóan biztatott, hogy minden rendben lesz, sikerülni fog.

Szeretném megköszönni a barátomnak, Kitli Márknak, aki a dolgozat papírra vetése során mellettem állt, támogatott, kitartó türelemmel állt hozzám és minden felmerülő nehézséget segített megoldani.

8. Irodalomjegyzék

- Abdul-Wahid, O.A. and Elbanna, S.M. (2012): Evaluation of the insecticidal activity of *Fusarium solani* and *Trichoderma harzianum* against cockroaches; *Periplaneta Americana*. African Journal of Microbiology Researches, 6: 1024–1032.
- Balamurali, R.S. (2019): Systematics and ecology of the Isopods: Exploring the manifold potential of a microarthropod. Ilkogretim Online – Elementary Education Online, 18: 2336–2347.
- Bardgett, R.D. (2005): The Biology of Soil - A community and ecosystem approach. Oxford University Press, Oxford and New York, 256 p.
- Bardgett, R.D. and Wardle D. A. (2010): Aboveground-Belowground Linkages: Biotic Interactions, Ecosystem Processes, and Global Change. Oxford University Press, New York, 320 p.
- Batool, R., Umer, M.J., Wang, Y., He, K., Zhang, T., Bai, S., Zhi, Y., Chen, J. and Wang, Z. (2020): Synergistic Effect of *Beauveria bassiana* and *Trichoderma asperellum* to induce maize (*Zea mays* L.) defense against the Asian Corn Borer, *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera, Crambidae) and larval immune response. International Journal of Molecular Sciences, 21: 8215.
- Benítez, T., Rincón, A.M., Limón, M.C. and Codón, A.C. (2004): Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology, 7: 249–260.
- Bissett, J. (1991): A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. Canadian Journal of Botany, 69: 2357–2372.
- Blouin, M., Hodson, M.E., Delgado, E.A., Baker, G., Brussaard, L., Butt, K.R., Dai, J., Dendooven, L., Peres, G., Tondoh, J.E., Cluzeau, D. and Brun, J.J. (2013): A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. European Journal of Soil Science, 64: 161–182.
- Bouché, M.B. (1977): Stratégies lombriciennes. In: Lohm, U., Person, T. (eds.). Soil Organisms as Components of Ecosystems. Ecological Bulletins n°25, Swedish Natural Science Research Council, Stockholm, 122–132 pp.
- Brown, G.G. (1995): How do earthworms affect microfloral and faunal community diversity? Plant and Soil, 170: 209–231.
- Cabellero Ortiz, S. and Rohlfs, M. (2016): Isopod grazing induces down-regulation of *Aspergillus nidulans* antifungivore defence marker gene, Fungal Ecology, 20: 84–87.
- Claridge, A. and Trappe, J. (2005): Sporocarp mycophagy: nutritional, behavioral, evolutionary and physiological aspects. In: Dighton, J., White, J., Oudemans, P. (eds.), The fungal community—its organization and role in the ecosystem, 3rd edn. CRC, Boca Raton, 599–611 pp.
- Cole, G.T. and Hoch, H.C. (eds.) (1991): The Fungal Spore and Disease Initiation in Plants and Animals. Plenum, New York, 555 p.
- Coleman, D.C., Crossley, D.A. and Hendrix, P.F. (2004): Fundamentals of Soil Ecology, 2nd Edition. Academic Press, San Diego, CA. 386 p.
- Crowther, T.W., Stanton, D.W.G., Thomas, S.M., A'Bear, A.D., Hiscox, J., Jones, T.H., Vorískova, J., Baldrian, P. and Boddy, L. (2013): Top-down control of soil fungal community composition by a globally distributed keystone consumer. Ecology, 94 (11): 2518–2528.
- Darwin, C.R. (1881): The Formation of Vegetable Mould through the Action of Worms with Observation on their Habits. Murray, London, 298 p.
- Dash, M.C., Mishra, P.C. and Behera, N. (1979): Fungal feeding by a tropical earthworm. Tropical Ecology, 20: 9–12.
- Delgado, P.A.M. and Murcia, O.P. (2011): Hongos entomopatógenos: una alternativa para la obtención de Biopesticidas. Ambi-Agua, 6: 77–90

- Dominati, E., Patterson, M. and Mackay, A. (2010): A framework for classifying and quantifying the natural capital and ecosystem services of soils. *Ecological Economics*, 69: 1858–1868.
- Dromph, K.M. (2001): Dispersal of entomopathogenic fungi by collembolans. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(15): 2047–2051.
- Edwards, C.A. and Bohlen, P.J. (1996): *Biology and Ecology of Earthworms*. 3rd ed. Chapman and Hall, Boca Raton, FL, 426 p.
- Edwards, C.A. (2004): *Earthworm Ecology*, 2nd ed. CRC Press LLC, St. Lucie Press, Boca Raton. 456 p.
- Farkas, S. és Vilisics, F., (2013): Magyarország szárazföldi ászkarak faunájának határozója (Isopoda: Oniscidea). *Natura Somogyiensis*, 23: 89–124.
- Fassatiová, O. (1984): *Penészek és fonalgombák az alkalmazott mikrobiológiában*. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 89 p.
- Gonzalez, C.L. (1990): Determinación de la influencia de *Pontoscolex corethrurus* (Oligochaeta) sobre las poblaciones microbianas presentes en un sembradio de maíz de la region de Gomez Farias, Tamaulipas. Thesis, Universidad Nacional Autonoma de Mexico, Los Reyes Iztacala, Mexico. 108 p.
- Grinyer, J., McKay, M., Nevalainen, H. and Herbert, B.R. (2004): Fungal proteomics: Initial mapping of biological control strain *Trichoderma harzianum*. *Current Genetics* 45, 163–169.
- Gupta, S., Montllor, C. and Hwang Y.S. (1995): Isolation of novel beauvericin analogues from the fungus *Beauveria bassiana*. *Journal of Natural Products*, 58: 733–738.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T. and Ryan, P.D. (2001): PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1): 9.
- Hoffmann, J.A. and Purdy, L.H. (1964): Germination of dwarf bunt teliospores after ingestion by earthworms. *Phytopathology*, 54: 878–879.
- Hofman, J., Hovorková, I. and Machát, J. (2009): Comparison and Characterization of OECD Artificial Soils. In: Moser, H. and Römbke, J. (eds.): *Ecotoxicological Characterization of Waste*. Springer, New York, 223–229 pp.
- Hornung, E., Farkas, S. and Fisher, E. (1998): Tests on the Isopod *Porcellio scaber*. In: Lokke, H., Van Gestel, C.A.M. (eds.): *Handbook of soil invertebrate toxicity tests*. John Wiley & Sons, Chichester, New York, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto, 207–226 pp.
- Horton, C.G. (2017): *Earthworms, Types, Roles and Research*. Nova Science Publisher, New York, 227 p.
- Howell, C.R. (2003): Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87: 4–10.
- Hung, S.Y. and Boucias D.G. (1992): Influence of *Beauveria bassiana* on the cellular defense response of the beetle armyworm, *Spodoptera exigua*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 60: 152–158.
- Kautz, G. and Topp, W. (2000): Acquisition of microbial communities and enhanced availability of soil nutrients by the isopod *Porcellio scaber* (Latr.) (Isopoda: Oniscidea). *Biology and Fertility of Soils*, 31: 102–107.
- Keogh, R.G. and Christensen, M.J. (1976): Influence of passage through *Lumbricus rubellus* Hoffmeister earthworms on viability of *Pithomyces chartarum* (Berk. and Curt.) M B Ellis spores. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 19: 255–256.
- Khaleil, M.M.M. (2016): Biocontrol potential of entomopathogenic fungus, *Trichoderma hamatum* against the cotton aphid, *Aphis gossypii*. *IOSR Journal of Environmental Sciences, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT)*, 10: 11–20.
- Küçük, Ç. and Kivanç, M. (2004): Isolation of *Trichoderma* spp. and determination of their antifungal, biochemical and physiological features. *Turkish Journal of Biology*, 27: 247–253.
- Lavelle, P. (1981): Strategies de reproduction chez les vers de terre. *Acta Oecologica Oecologia Generalis*, 2: 117–133.

- Lavelle, E., Barois, I., Martin, A., Zaidi, Z. and Schaefer, R. (1989): Management of earthworm populations in agro-ecosystems: A possible way to maintain soil quality? In: M. Clarholm and L. Bergström (eds.) *Ecology of Arable Land - Perspectives and Challenges*. Kluwer Academic Publishers, London, 109–122 pp.
- Lee, K. E. (1985): *Earthworms: Their Ecology and Relationships with Soil and Land Use*. Academic Press, Australia, 411 p.
- Lilleskov, E.A. and Bruns, T.D. (2005): Spore dispersal of a resupinate ectomycorrhizal fungus, *Tomentella subulilacina*, via soil food webs. *Mycologia*, 97(4): 762–769.
- Lussenhop, J. (1992): Mechanisms of microarthropod-microbial interactions in soil. *Advances in Ecological Research*, 23: 1–33.
- Mather, J.G. and Christensen, O.M. (1992). Surface migration of earthworms in grassland. *Pedobiologia*, 36: 51–57.
- Medina-Sauza, R.M., Álvarez-Jiménez, M., Delhal, A., Reverchon, F., Blouin, M., Guerrero-Analco, J.A., Cerdán, C.R., Guevara, R., Villain, L. and Barois, I. (2019): Earthworms building up soil microbiota, a review. *Frontiers in Environmental Science*, 7: 81.
- Mora, M.A., Castilho, A.M. and Fraga, M.E. (2017): Classification and infection mechanism of entomopathogenic fungi. *Arquivos do Instituto de Biologia Vegetal*, 84: 1–10.
- Nakamori, T. and Suzuki, A. (2005): Spore-breaking capabilities of collembolans and their feeding habitat within sporocarps. *Pedobiologia* 49(3): 261–267.
- Nuske, S.J., Vernes, K., May, T.W., Claridge, A.W., Congdon, B.C., Krockenberger, A. and Abell, S.E. (2017): Redundancy among mammalian fungal dispersers and the importance of declining specialists. *Fungal Ecology*, 27: 1–13.
- Ownley, B.H., Pereira, R.M., Klingeman, W.E., Quigley, N.B. and Leckie, B.M. (2004): *Beauveria bassiana*, a dual purpose biocontrol organism, with activity against insect pests and plant pathogens. In: Lartey, R. T., Caesar, A. J. (eds.): *Emerging Concepts in Plant Health Management*. Research Signpost, Sidney, 255–269 pp.
- Parle, J.N. (1963): A microbiological study of earthworm casts. *The Journal of General Microbiology*, 31: 13–22.
- Pearce, T.G. (1972): The calcium relations of selected Lumbricidae. *Journal of Animal Ecology*, 41: 167–188.
- Ponge, J.F. (1991): Succession of fungi and fauna during decomposition of needles in a small area of Scots pine litter. *Plant and Soil*, 138: 99–113.
- Póss, A., Plangár, N., Turóczy, Gy. és Tóth, F. (2017): Szárazföldi ászkarákok mint nem-célszervezetek érzékenysége *Beauveria bassiana* és *Metarhizium anisopliae* entomopatogén gombákra laboratóriumi kísérletben. *Növényvédelem*, 78(6): 259–262.
- Rifai, M.A. (1969): A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycology Paper*, 116: 1–56.
- Rouelle, J. (1984): Relations vers de terre-microorganismes: Applications à la lombriculture (nutrition, maladies, élimination des germes pathogènes). In: *L'Elevage du ver de terreau: Le point sur les recherches en cours*, ITAVI, Paris, 22–39.
- Roy, H.E., Steinkraus, D., Eilenberg, J., Hajek, A.E. and Pell, J.K. (2006): Bizarre interactions and endgames: entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. *Annual Review Entomology*, 51: 331–357.
- Samuels, G.J., Lieckfeldt, E. and Nirenberg, H.I. (1999): *Trichoderma asperellum*, a new species with warted conidia, and redescription of *T. viride*. *Sydowia*, 51(1): 71–88.
- Samuels, G.J. (2006): *Trichoderma*: Systematics, the sexual state, and ecology. *Phytopathology*, 96: 195–206.
- Schneider, K., Renker, C. and Maraun, M. (2005): Oribatid mite (Acari, Oribatida) feeding on ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 16(1): 67–72.
- Scholte, E.J., Knols, B.G.J., Samson, R.A. and Takken, W. (2004): Entomopathogenic fungi for mosquito control: a review. *Journal of Insect Science*, 4: 19–24.

- Shakeri, J. and Foster, H.A. (2006): Proteolytic activity and antibiotic production by *Trichoderma harzianum* in relation to pathogenicity to insects, *Enzyme and Microbial Technology*, 40(4): 961–968.
- Sinha, M.P., Srivastava, R. and Gupta, D.K. (2013): Earthworm biodiversity of Jharkhand: Taxonomic description. *The Bioscan*, 8: 293–310.
- Stefanelli, L.E.P., Mota Filho, T.M.M., Camargo, R.D.S., Matos, C.A.O.D. and Forti, L.C. (2021): Effects of entomopathogenic fungi on individuals as well as groups of workers and immatures of *Atta sexdens rubropilosa* leaf-cutting ants. *Insects*, 12: 10.
- Striganova, B.R., Marfenina, O.E. and Ponomarenko, V.A. (1989): Some aspects of the effect of earthworms on soil fungi. *Biology Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR*, 15: 460–463.
- Tanaka, K. and Udagawa, T. (1993): Cold adaptation of the terrestrial isopod, *Porcellio scaber*, to subnivean environments. *Journal of Comparative Physiology B*, 163: 439–444.
- Tanzini, M., Alves, S., Setten, A. and Augusto, N. (2001): Compatibilidad de agent estensoactivos com *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. *Manejo Integrado de Plagas*, 59: 15–18.
- Tiwari, S.C. and Mishra, R.R. (1993): Fungal abundance and diversity in earthworm casts and in uningested soil. *Biology and Fertility of Soils*, 16: 131–134.
- Vašutová, M., Mleczko, P., López-García, A., Maček, I., Boros, G., Ševčík, J., Fujii, S., Hackenberger, D., Tuf, I. H., Hornung, E., Páll-Gergely, B. and Kjølner, B. (2019): Taxi drivers: the role of animals in transporting mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 29: 413–434.
- Vega, F.E., Goettel, M.S., Blackwell, M., Chandler, D., Jackson, M.A. and Keller, S. (2009): Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. *Fungal Ecology*, 2: 149–159.
- Vega, F.E., Meyling, N., Luangsa-Ard, J. and Blackwell, M. (2012): Fungal Entomopathogens. In: Vega, F. and Kaya, H. (eds.): *Insect Pathology*, 2. ed., Academic Press, Cambridge, 171–220 pp.
- Vidal, A., Watteau, F., Remusat, L., Mueller, C.W., Nguyen Tu, T.T., Buegger, F., Derenne, S. and Quenea, K. (2019): Earthworm cast formation and development: a shift from plant litter to mineral associated organic matter. *Frontiers in Environmental Science*, 7: 55.
- Visser, S. (1985): Role of the soil invertebrates in determining the composition of soil microbial communities. In: Fitter, A., Atkinson, D., Read, D.J. and Usher, M.B. (eds.): *Ecological Interactions in Soil*. Blackwell Scientific, Oxford, 297–317 pp.
- Willems, J.H. and Huijsmans, K.G.A. (1994): Vertical seed dispersal by earthworms: a quantitative approach. *Ecography*, 17: 124–130.
- Yamashita, S. and Hijii, N. (2003): Effects of mushroom size on the structure of a mycophagous arthropod community: comparison between infracommunities with different types of resource utilization. *Ecological Research*, 18(2):131–143.
- Zhang, C.L., Liu, S.P., Lin, F.C., Kubicek, C.P. and Druzhinina, I.S. (2007): *Trichoderma taxi* sp. nov., an endophytic fungus from Chinese yew *Taxus mairei*. *FEMS Microbiology Letters*, 270: 90–96.
- Zhou, X., Liang, W., Zhang, Y.C., Crabbe, M.J., Ren, Z. and Xie, Y. (2022): Distribution and pathogenicity of *Beauveria bassiana* in soil with earthworm action and feeding. *PLoS ONE*, 17: e0275826.
- Zimmer, M. (2002): Nutrition in terrestrial isopods (Isopoda: Oniscidea): an evolutionary-ecological approach. *Biological Reviews*, 77: 455–493.

Internetes hivatkozások

http1: Millennium Ecosystem Assessment.

<https://www.millenniumassessment.org/en/index.html> (2022. 10.)

http2: Department of Public Works.

<https://www.sandiegocounty.gov/content/sdc/dpw/recycling/CompostScience.html> (2023. 04)

http3: Imperfect fungus definition and meaning.

<https://www.merriam-webster.com/dictionary/imperfect%20fungus> (2023. 02.)

http4: *Beauveria bassiana* (white muscardine fungus).

<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.8785> (2023. 04.)

9. Mellékletek

- 1. melléklet** Trágyagilisztá etetési kísérlet eredményeinek értékelése. A szignifikánsan eltérő eredmények sárga színnel kiemelve láthatók.

Mann-Whitney

	Kontroll	1. nap	2. nap	3. nap	4. nap	5. nap
Kontroll		0,001975	0,000128	0,000158	0,000182	0,001986
1. nap	0,001975		0,1802	0,2469	0,454	0,9021
2. nap	0,000128	0,1802		0,7655	0,4554	0,2119
3. nap	0,000158	0,2469	0,7655		0,7221	0,3237
4. nap	0,000182	0,454	0,4554	0,7221		0,5053
5. nap	0,001986	0,9021	0,2119	0,3237	0,5053	

- 2. melléklet** Érdes pinceászka etetési kísérlet eredményeinek értékelése. A szignifikánsan eltérő eredmények sárga színnel kiemelve láthatók.

Mann-Whitney

	B Paracicsom	B Uborka	K Paracicsom	K Uborka	T1 Paracicsom	T1 Uborka	T34 Paracicsom	T34 Uborka
B Paracicsom		1,59E-05	1,59E-05	1,59E-05	1	1,59E-05	1	1,59E-05
B Uborka	1,59E-05		1	1	1,59E-05	1	1,59E-05	1
K Paracicsom	1,59E-05	1		1	1,59E-05	1	1,59E-05	1
K Uborka	1,59E-05	1	1		1,59E-05	1	1,59E-05	1
T1 Paracicsom	1	1,59E-05	1,59E-05	1,59E-05		1,59E-05	1	1,59E-05
T1 Uborka	1,59E-05	1	1	1	1,59E-05		1,59E-05	1
T34 Paracicsom	1	1,59E-05	1,59E-05	1,59E-05	1	1,59E-05		1,59E-05
T34 Uborka	1,59E-05	1	1	1	1,59E-05	1	1,59E-05	

- 3. melléklet** Visszafertőzőési kísérlet eredményeinek értékelése. A szignifikánsan eltérő eredmények sárga színnel kiemelve láthatók

Lárva	Tukey			Imágó	Mann-Whitney		
	Belsőleg	Külsőleg	Kontroll		Belsőleg	Külsőleg	Kontroll
Belsőleg		0,02622	0,1182	Belsőleg		0,177	0,1797
Külsőleg	4,287		0,6709	Külsőleg	0,177		0,9049
Kontroll	3,062	1,225		Kontroll	0,1797	0,9049	

Báb	Tukey			Elpusztult	Tukey		
	Belsőleg	Külsőleg	Kontroll		Belsőleg	Külsőleg	Kontroll
Belsőleg		0,8896	0,6351	Belsőleg		0,0707	1
Külsőleg	0,6547		0,8896	Külsőleg	0,0707		0,0707
Kontroll	1,309	0,6547		Kontroll	1,00E+00	0,0707	

10. Nyilatkozat

NYILATKOZAT

a diplomadolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Bárányos Fanni
A Hallgató Neptun kódja: SGO5YS
A dolgozat címe: Entomopatogén gombák endozoochóriás terjedése gyűrűsférgekkel és ászkarakokkal
A megjelenés éve: 2023.
A konzulens tanszék neve: Állattani és Ökológiai Tanszék

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

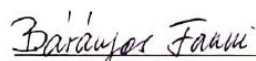
Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a Záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

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 tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe.

Kelt: Bicske, 2023. április 28.


Hallgató aláírása

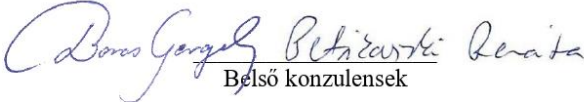
KONZULTÁCIÓS NYILATKOZAT

Bárányos Fanni (SGO5YS) konzulenseiként nyilatkozunk arról, hogy a diplomadolgozatot áttekintetük, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattuk.

A diplomadolgozatot a záróvizsgán történő védeésre javaslom / nem javaslom.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem

Kelt: Gödöllő, 2023.04.28.


Belső konzulensek