



MAGYAR AGRÁR- ÉS ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM
SZENT ISTVÁN CAMPUS
NÖVÉNYORVOS MSC SZAK

**Bazídiumos nagygomba kivonatok,
mint potenciális növényvédő szerek**

Belső konzulens: Dr. Körösi Katalin Orsolya
egyetemi docens

Külső konzulens: Dr. Krüzselyi Dániel
tudományos munkatárs
Dr. Móricz Ágnes
tudományos főmunkatárs
Dr. Bozsó Zoltán
tudományos főmunkatárs

Készítette: **Vámosi Beatrix**
G5PEI0
nappali tagozat

Növényvédelmi Intézet
Integrált Növényvédelmi Tanszék

Gödöllő
2023

TARTALOMJEGYZÉK

1.	BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK	3
2.	SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS	5
2.1.	A növényvédelem jelenlegi trendjei.....	5
2.2.	A növényvédelem jövőbeli kihívásai.....	8
2.3.	A biopeszticidok és felhasználásuk	9
2.3.1.	Élő szervezetek mint biopeszticidok	11
2.3.2.	A biopeszticid hatóanyagok	12
2.3.3.	Bazídiumos gombák és bioaktív anyagaik	14
3.	AZ ALKALMAZOTT KUTATÁSI MÓDSZEREK.....	16
3.1.	A vizsgálat tárgyát képező gombák (nagygombák)	16
3.2.	Az extrakciós eljárás.....	17
3.3.	Az felhasznált mikroorganizmusok és tenyésztési körülményeik.....	18
3.4.	A mikrobiológiai paraméterek meghatározása	18
3.5.	A kivonatok növényre gyakorolt hatása	19
3.6.	Növények fertőzési kísérletei és monitorozása	20
3.6.1.	Konduktivitás mérés.....	22
3.6.2.	Baktérium visszaizolálási kísérletek.....	23
3.6.3.	Csávázási kísérletek	23
3.7.	Statisztikai módszerek	24
4.	EREDMÉNYEK	25
4.1.	A kivonatok növényekre és magokra gyakorolt hatása.....	25
4.2.	Vírusos kísérletek eredményei	27
4.3.	A bakteriális és a fungális <i>in vitro</i> kísérletek eredményei	31
4.4.	A kivonatok antibakteriális hatása <i>in planta</i> körülmények között.....	36
4.5.	A csávázás hatékonysága.....	37
5.	KONKLÚZIÓK, JAVASLATOK	39
6.	ÖSSZEFOGLALÁS.....	42
7.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	44
	IRODALOMJEGYZÉK	45
	Mellékletek	50
	I. Melléklet – Az alkalmazott táptalajok	50
	II. Melléklet – TMV kísérleti elrendezés	51
	III. Melléklet – A <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>nicotiana</i> kísérlet elrendezése	52

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

μS – a siemens, a vezetőképesség mértékegysége. A mikrosiemens ennek az ezredrésze.

CFU – Colony Form Unit – telepkepző egységek száma, melyből lehet következtetni a mikrobiális sejtek kiindulási koncentrációjára

DDT – diklór-difenil-triklóretán, totális rovarölő szer, 1968-ban betiltották használatát

EtOH – etanol

EU – Európai Unió

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations, Egyesült Nemzetek Szervezetének Élelmészügyi és Mezőgazdasági Világszervezet

GMO – olyan szervezetek, amelyekben a genetikai örökítőanyagot mesterségesen átalakítottak, úgy, ahogy az a természetben nem fordul elő

IC₅₀ – half maximal Inhibitory Concentration (50%-os gátló hatást okozó koncentráció)

MeOH – metanol

MIC – Minimal Inhibitor Concentration (minimális gátló koncentráció)

NÉBIH – Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal

TMTD – tetrametil-tiurám-diszulfid (tirám)

TMV – Tobacco Mosaic Virus, Dohánymozzaik vírus

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A mezőgazdaság kezdete óta beszélhetünk növényvédelemről, mely manapság is alapvető fontosságú a növénykórokozókkal és kártevőkkel szembeni küzdelemben. A hatékony és fenntartható növényvédelem feladata, hogy kárkűszőb alatt tartva a károsítókat minimalizálni tudja a termésveszteséget, ezzel biztosítva a megfelelő termésátlagot és élelmiszerbiztonságot. A gazdák lehetőségei korlátozottak a növényvédelem területén, ennek az egyik oka, hogy a kórokozók rezisztensekké válhatnak a peszticidekkel szemben.

A növényvédelemnek számolnia kell olyan kihívásokkal is, mint az éghajlatváltozás, a tömeges hatóanyag kivonások és a világpiacnak való folyamatos megfelelés. Egyre kiszámíthatatlanabb időjárási jelenségekkel kell szembe nézniük a gazdáknak, melyek a hatékony növényvédelmet is nagyban megnehezítik. A betegség-terjesztő vektorok elterjedési területe folyamatosan növekszik az átlaghőmérséklet emelkedésével, ezzel párhuzamosan a kórokozók is olyan helyeken jelennek meg, ahol korábban nem fordultak elő.

A növényvédő szerek piacának jelentős átalakítását tervezik az Európai Unióban, melynek következtében a felhasználható növényvédő szerek közel 50%-át vonnák ki a forgalomból 2030-ig. A különböző gombás és bakteriális fertőzések kezelésére alkalmazott réz- illetve kéntartalmú szereket belátható időn belül ki fogják vonni, melyek az ökológiai és a konvencionális gazdálkodás nélkülözhetetlen elemei voltak ezidáig. A konvencionális növényvédelem a mechanikai és a kémiai eljárásokon, illetve ezek kombinációin alapulnak. Elképzelhető, a hatóanyag-kivonások következtében, hogy a gazdák nem fogják tudni a növényeket a kórokozóktól megvédeni és ennek következtében a megfelelő termés hozamokat produkálni. A jövőben tehát a növénytermesztés valószínűleg kevésbé lesz jövedelmező és stabil ágazat, illetve a növényvédelem is többletköltségeket fog eredményezni (többszöri kezelések, drágább hatóanyagok, nagyobb dózisok, stb.).

Ennek a súlyos problémának a megoldására olyan növényvédelmi módszerek kifejlesztése és alkalmazása válik szükségessé, melyek alapját a biológiai eredetű hatóanyagok adják. A természet számos olyan lehetőséget kínál számunkra, melyek megfelelő alapot biztosíthatnak a kezdeti lépésekhez. Ilyen forrásnak tekinthetők a bazídiumos nagygombák, melyek másodlagos anyagcsere-folyamataik révén olyan hatóanyagokat képesek termelni, melyek hatásosak lehetnek az egyes növénykórokozókkal szemben. A mezőgazdaságban már használnak olyan kalapos gombákból származó

hatóanyagokat – például a különböző strobilurinokat, amiket a keserű tobozfülőkéből (*Strobilurus tenacellus*) mutatták ki először – melyek mikroszkópikus gombaölő hatásúak.

A bazídiumos gombákból nyert hatóanyagok a környezetbarát növénytermesztési technológiákba is beilleszthetőek, úgymint az integrált növényvédelem és az ökológiai gazdálkodás. Ezen agrártechnológiák célja, hogy szermaradványmentes és biztonságos élelmiszereket állítsanak elő, a helyi energia és nyersanyagok felhasználásával, mindezt lehetőleg a természeti környezetünk terhelése nélkül.

A diplomadolgozatomban célja a már *in vitro* kísérletekben (különböző nem növénypatogén törzseken tesztelt) hatásosnak bizonyult bazídiumos nagygombák kivonatainak a hatásosságát felmérjük *in planta* körülmények között. A kísérletek során a termesztésből származó citromsárga laskagomba (*Pleurotus citrinopileatus*), ördögszekér laskagomba (*P. eryngii*), késői laskagomba (*P. ostreatus*), déli tőkegomba (*Cyclocybe cylindracea*) és a téli fülőke (*Flammulina velutipes*) kivonatait használtuk fel. A dolgozatban elvégzett kísérletek kiterjednek vírusos, bakteriális és gombakórokozók vizsgálatára is.

2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A növényvédelem jelenlegi trendjei

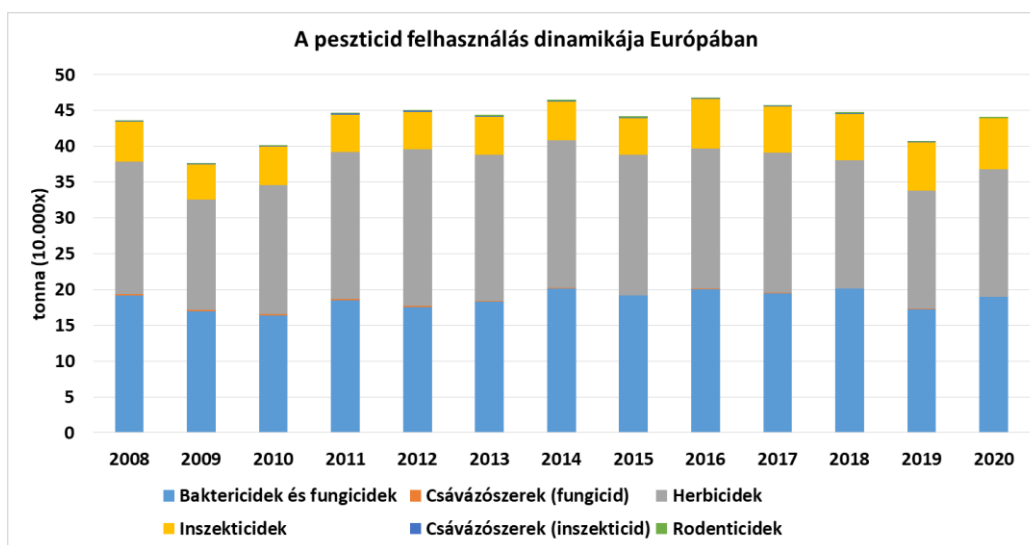
Az elmúlt évtizedekben a világ agroökoszisztémái jelentős átalakuláson mentek keresztül, ideértve a kémiai növényvédő szerek egyre intenzívebb használatát és a termőterületek bővülését is, melyek a biodiverzitás és az ökoszisztéma-szolgáltatások folyamatos csökkenését eredményezték. Napjainkban a gazdák, az agrárszakemberek és a kutatók számára nagy kihívást jelent, olyan innovatív technológiai megoldások kidolgozása, amelyek alkalmasak a növénytermesztés volumenének növelésére. Azonban ezeknek az újításoknak, a termésminőség és élelmiszerbiztonság megőrzése mellett, a környezeti kockázatok minimalizálását is lehetővé kell tenniük (Giuliano et al., 2018).

A növényi kártevők és kórokozók nagymértékben befolyásolják a termésátlagot, akár 40%-os veszteséget is okozva. A hagyományos növényvédő szerek megfelelő szintű védelmet nyújtottak, illetve nem okoztak bonyolult stratégiai kihívásokat. A konvencionális növénytermesztés jövőjét azonban egyre jobban fenyegeti a növényvédő szerek elleni rezisztencia kialakulása, a mezőgazdasági termékek minőségének csökkenése és a hatóanyagok egyre szigorúbb törvényi szabályozása is (IPPC Secretariat, 2021). Ennek nyomán olyan mezőgazdasági stratégiák kialakítása vált szükségessé, melyek fenntartható módon és nem mellesleg az agroökoszisztéma megőrzése mellett javítják a kultúrnövények ellenálló képességét is (Giuliano et al., 2018).

Az integrált növényvédelemi rendszerek különböző mechanikai, biológiai és kémiai technikákat használnak egy-egy kártevő populáció meghatározott gazdasági kárszint alatt tartására.. A rendszer alapját a monitorozás és a gyakorlati kezelések különböző variációi adják, melyek elenyésző mennyiségű peszticid felhasználást eredményezhetnek. Az utóbbi években a legnagyobb vegyipari vállalatok mutattak nagy érdeklődést a biológiai védekezésre szolgáló készítmények piaca iránt (Fahad et al., 2021). Manapság a növényvédelmi rendszereket a digitális technológia nyújtotta lehetőségekkel egészítik ki a minél hatékonyabb működés érdekében. A digitalizáció lehetővé teszi a valós idejű elemzést, amely elősegíti a hatékonyabb kijuttatás technológiát, a talaj- és vízgazdálkodást (Fielke et al., 2020).

Európában a növényvédelem alkalmazási lehetőségeit és fejlesztési irányait nagyban meghatározzák az Unió szabályozási rendszerek, úgymint a 2009-ben elfogadott

növényvédőszer engedélyezési és forgalomba hozatali 1107/2009/EK rendelet. Ez tartalmazza a növényvédő szerekre vonatkozó előírásokat, illetve az engedélyezett hatóanyagokat és hatóanyagcsoportokat. A kutatások alapján a környezetre és az egészségre károsan ható vegyületeket fokozatosan ki kell vezetni, ennek következtében minden olyan hatóanyag visszavonásra fog kerülni, amely igazoltan szaporítószerveket károsító, bioakkumulatív vagy hormonhatással rendelkezik (Storck et al., 2017). A FAO adatbázisában kereshetőek a peszticid felhasználással kapcsolatos adatok, mely segítségével a szűrt európai adatokból készítettem el az **1. ábrát**.



1. ábra – Európában felhasznált peszticidek mennyisége 2008 és 2020 között
(Forrás: FAOSTAT, 2022)

Az **1. ábrán** jól látható, hogy mekkora mennyiségű és milyen típusú peszticidet használtak fel az európai mezőgazdaságban 2008 és 2020 között. A vizsgált időszakban két alkalommal több tízezer tonnát meghaladó változást láthatunk, az első komolyabb csökkenés 2009-ben történt, ugyanis a 2008-as gazdasági világválság hatására a peszticid felhasználás mértéke zuhanni kezdett Európában. Ezt követően, pont 10 évvel később csökkent a peszticid felhasználás jelentős mértékben, melynek oka, a SARS-CoV-2 (COVID-19) elnevezésű koronavírus világjárvány volt. A járvány első hulláma Kínában alakult ki, mely döntő jelentőségű volt a peszticid felhasználásra is, mivel a peszticidek többségét Kínából importált hatóanyagokból állítják elő, így a járvány kirobbanásakor, az alapanyag beszállítások lecsökkenésével párhuzamosan az előállítás és felhasználás is visszaesett.

Ezen eseményektől függetlenül, pedig komoly hatása van az Európai Unió szabályozási rendszerének a peszticid felhasználásra, mely nem csupán a környezetvédelmi, hanem a hatóanyag fejlesztési irányokat is jelentős mértékben megszabja. Az Európai Unióban a növényvédelemben használatos szereket időről-időre újra engedélyeztetni kell, mely során a hatóanyagok felülvizsgálatát végzik el. A glifozát tartalmú totális gyomirtószer, így került újra engedélyezésre 2017-ben, bár előzetesen a teljes kivonás mellett döntöttek, azonban alternatíva hiányában újra engedélyezték, a közismerten rákkeltő gyomirtót. *„A döntés mellett akkor a legfőbb érv az volt, hogy a szer kivonása nagyobb anyagi kárt okozna a gazdálkodóknak, mint amennyire a környezetre és az egészségre ártalmas”* (Vajna, 2021).

Ezzel szemben, 2018-ban például számos a neonikotinoid csoportba tartozó hatóanyagot (imidakloprid, a klotianid és a tiametoxam) tiltottak be, mivel e hatóanyagokbizonyítottan mérgező hatásúak a méhekre. Az acetamiprid és a tiakloprid hatóanyagok azonban a kereskedelmi forgalomba még kaphatóak, mivel mérsékleten jelentenek kockázatot a méhekre. 2019-ben a TMTD hatóanyagát a tirámot is betiltották, melyet fontos csávázó- és állománykezelő szerként használtak. Emellett a propineb (kontakt gombaölő szer), a kloridazon (cukorrépában használt gyomirtószer), a glufozinát (kontakt és mélyhatású totális gyomirtószer) is tiltólistára került (Nébih, 2018). Az EU-ban végrehajtott peszticid hatóanyag visszavonások jól mutatják, hogy a környezetünk és az egészségünk is kockázatoknak van kitéve az egyes hatóanyagok használata során. Az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) széles körű ellenőrzéseket folytat az EU területén működő élelmiszerrendszerekben 2008 óta, hogy kiszűrjék a még be nem tiltott, de egészségkárosító hatással bíró szereket (KEMI, 2020). Ezen törekvés részeként létrejött a biodiverzitás megőrzéséről szóló Európai Zöld Megállapodás *„A farmtól asztalig”*, mely az EU Élelmiszerbiztonság egyik fő irányelve, ami elősegíti a fenntartható élelmiszerrendszerekre való átállást és az ökológiai gazdaságok fenntartását és bővítését.

Az Európában előállított állati termékekben, állati szövetekben és tejszármazékokban is jelentős mennyiségű veszélyes peszticid-maradványt azonosítottak. Magasabb koncentrációban találtak perzisztens (olyan vegyület, mely tartósan képes a környezetben megmaradni) peszticideket, mint például DDT-t, klórdekont vagy a hexaklór-benzolt (HCB). Az előbb említett peszticidek már betiltásra kerültek az Európai Unió mezőgazdasági termelésben, mégis láthatjuk, hogy évek múltán is kimutathatóak a környezetünkben és élelmiszerláncunkban (Cabrera and Pastor, 2021; Zhou et al., 2012).

Az ökológiai gazdaságok célja, hogy természetes anyagok és módszerek felhasználásával állítsanak elő élelmiszert, mely a biotermékek iránti fokozott kereslet miatt egyre gyorsabban növekedő ágazat (Cech et al., 2022). Az ágazat gyors bővülésének kihívásaira az EU gyorsan és hatékonyan reagálva 2022-től új védelmi szabályokat alkotott meg a biotermékekkel kapcsolatban. Az Európai Bizottság ígéretet tett arra, hogy 2030-ig felére csökkenti a használatban lévő magas kockázatú növényvédő szerek felhasználását, illetve ösztönözni fogja az alternatív növényvédelmi módszerek alkalmazását az élelmiszerbiztonság megőrzése érdekében (Cech et al., 2022).

2.2. A növényvédelem jövőbeli kihívásai

A növényvédelem legfontosabb kihívásai a klímaváltozás és az élelmiszerbiztonság mellett a fenntarthatóság megőrzése és a munkaerő megtartása lenne. A szintetikus növényvédő szerek (folyamatos visszavonások) és műtrágyák használata (törvényi korlátozása) talán az egyik legjelentősebb kihívás, amit már a világpolitika is egyre inkább próbál korlátok közé szorítani.

Azonban a növényvédő szer visszavonások mellett, a gazdáknak nem nyújtanak megfelelő támogatást (főként alternatív eszközöket és hatóanyagokat), ezért sajnálatos módon megemelkedett az engedély nélkül előállított peszticidek gyártása és használata. E folyamat visszaszorítása érdekében világszerte a gyártó cégek új növényvédő szereket fejlesztenek. A fejlesztések gyakorlati részében gyakran problémák merültek fel, mivel a károsítók képesek gyors ellenállóságot kialakítani az adott hatóanyaggal szemben (Jeger et al., 2021).

Az új növényvédő szerek fejlesztése mellett, a technológia fejlődése is számos lehetőséget kínál a növényvédelem számára, az ún. precíziós gazdálkodás formájában, melyet a távérzékelés módszerével egészen új területeket nyit meg a növénybetegségek és kártevők felismerésében és kezelésében. A fiatal gazdák nyitottak az új lehetőségekre, ám a jövőbeli elterjedésének vannak még korlátai, mint az technológiai átállás ideje és költsége, illetve a megfelelően képzett munkaerő hiánya.

A globális éghajlatváltozás és annak következményei ma talán a világ legtöbbet emlegetett problémája, mely maradandó károkat képes okozni mind a társadalmunkban, mind pedig a környezetünkben. Komoly veszélyt jelentenek az országok közötti éghajlatváltozás okozta konfliktusok (pl.: víz- és élelmiszerhiány), a termőterületek

zsugorodása és ezzel párhuzamosan a termőképességük csökkenése. E globális problémát csak fokozza a világ népességének növekedése, amely becslések szerint eléri a 9,6 milliárd főt 2050-re, ami közel 59-98 %-os élelmiszer-fogyasztás növekedést fog eredményezni (Holtappels et al., 2021).

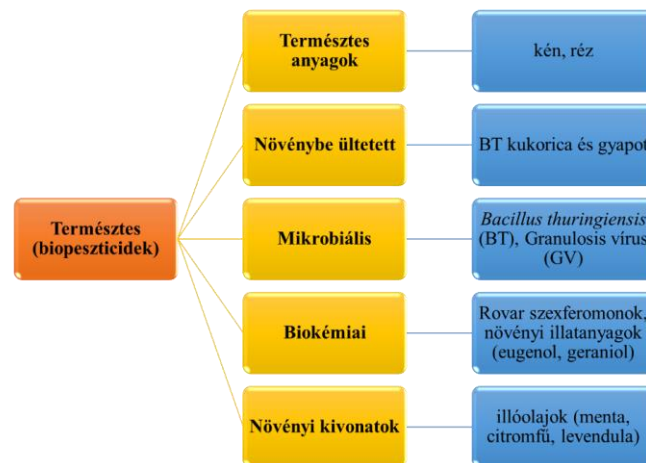
Az éghajlatváltozás új ökológiai „niche”-ket hozott létre a károkozók számára, a hőmérséklet emelkedése (áttelelési és túlélési esély nő) és a csapadékviszonyok változásai tették lehetővé a megtelepedésüket és a szaporodásukat, olyan területeken is, ahol korábban az életfeltételek alkalmatlanok voltak az élőhely kiaknázására. Az élőlények terjedésére jellemző, hogy olyan élőhelyeket képesek benépesíteni, melyek hasonló feltételekkel rendelkeznek, mint a korábbi élőhelyük. Tanulmányok kimutatták, hogy számos gomba és baktérium, illetve bogár-, lepke- és légyfaj egyértelműen a pólusirányok felé kezdtek elterjedni. Ennek egyik jellegzetes példája az európai kukoricabogár (*Ostrinia nubilalis*), melynek a közép-európai elterjedési területe több mint 1.000 km-rel északabbra tolódott (Skendžić et al., 2021)

A mezőgazdasági ágazatnak meg kell tanulni alkalmazkodni a klímaváltozás, a háborúk, a politikai döntések és a munkaerőhiány eredményezte kihívásokhoz, hogy egészséges élelmiszert és energiát biztosítson az egyre növekvő népesség számára. A jövőben támogatni kell a széleskörű kutatásokat, amik nagyban megkönnyítik a mezőgazdaság problémáinak kiegyensúlyozását, illetve ösztönzik a fiatal gazdákat a fejlődő technológiai eszközök használatára és a fenntarthatóbb fölhasználatra irányuló stratégiákra (Rahmann et al., 2017).

2.3. A biopeszticidek és felhasználásuk

A biopeszticidek olyan biológiai eredetű, élő szervezetek által termelt természetes anyagok vagy olyan élő szervezetek, melyek a növényi betegségek, a kártevők és a gyomfajok visszaszorítására/elpusztítására szolgálnak a természetes ökoszisztéma károsítása nélkül (Basnet et al., 2021; Meshram et al., 2021). A biopeszticidek ugyanis a természetben könnyen átalakulnak (alacsony expozíció) és lebomlanak (bomlástermékek rendszerint nem toxikusak). Ezen anyagok számos esetben csak bizonyos élőlényre hatnak és nem gyakorolnak káros hatást a táplálékláncre, így egy adott kártevő természetes ellenségei sincsenek veszélyben a kezelések alkalmával. A biopeszticidek általánossá válását azonban számos faktor hátráltatja, többek között a nagyfokú sajátosságuk és a hatásosság lassú kialakulása, illetve a gyors degradáció a különféle abiotikus tényezők (pl.:

napfény, eső) nyomán. Ellenben a szintetikus növényvédő szerek az esetek többségében feldúsulhatnak a talajban és a talajvízben, melynek következtében a különböző növénykórokozók körében nagyobb valószínűséggel alakulhat ki a rezisztencia. A biopeszticideket különböző csoportokba tudjuk sorolni aszerint, hogy a védekezés során az élő szervezeteket vagy az élő szervezet által előállított vegyületeket, valamint a természetben előforduló természetes anyagokat használjuk-e fel (**2. ábra**).



2. ábra – A biopeszticidek felosztása

(**Forrás:** saját szerkesztés Ansari et al., 2021 alapján)

A biopeszticidek használata nem új keletű jelenség, hiszen már a XVII. században is alkalmaztak különféle növényi kivonatokat a kártevők elleni védekezésben. A legkorábbi írásos emlékek alapján a nikotint alkalmazták elsőként növényvédelmi céllal a mezőgazdaságban szilvafa bogarak elleni védekezésre. A XIX. században egyre több anyagot fedeztek fel, melyek alkalmasak különböző növényvédelmi célok elérésére, ilyenek többek között az ásványi olajok. Idővel egyre inkább középpontba kerültek a természetes hatóanyagok az agrárkutatásban, melynek eredményeként megszületett a biokontroll fogalma. Az első és legszélesebb körben alkalmazott biopeszticid a *Bacillus thuringiensis* baktérium volt, melyet egy japán biológus izolált egy selyemhernyóból 1910-ben. Ennek alapján készítettek egy növényvédő szert 1938-ban, melyet kereskedelmi forgalomba hoztak és széles körben elkezdtek alkalmazni Franciaországban (Kumar és Singh, 2015).

Az elmúlt években a biopeszticidek világpiaci kereslete háromszorosára növekedett. A FAO 2020-as adatai alapján a felhasznált 2,6 millió tonna peszticid több mint 5%-át tették ki a biopeszticidek. Az Egyesült Államokban több mint 200 biopeszticid terméket forgalmaznak a gazdálkodók számára, míg az Európai Unióba csupán 60 termék érhető el

(Kumar és Singh, 2015). Az eltérést az okozza, hogy másféleképpen értelmezik a biopeszticidek fogalmát az EU-ban és az USA-ban (mivel beletartoznak a GMO szervezetek és anyagaik is). Európa 19 országában tiltott a génmódosított szervezetek termesztése és bármilyen nemű használata vagy forgalmazása (Agrárminisztérium, 2016). 2009-ben az Európai Tanács elfogadta a peszticidek fenntartható használatáról szóló irányelvet, amely elősegíti a biopeszticidek használatát a konvencionális agrárrendszerekben és az integrált növényvédelemi formákat részesíti előnyben (Európai Tanács, 2009).

2.3.1. Élő szervezetek, mint biopeszticidek

Az élőlények többsége rendelkezik természetes ellenségekkel és parazitákkal, melyek az adott szervezet populációméretét korlátozzák. Egyes esetekben olyan fajok is megjelenhetnek, melyek kompetíciós közeget alakítanak ki, melyek adott életteret és táplálékforrást elhódíthatják. Az ilyen szervezeteket összefoglalóan antagonista szervezeteknek nevezzük, amelyek életciklusuk során, a növényen (mint niche), az ott élő és táplálkozó károsítókkal és egyéb funkciókat betöltő szervezetekkel kölcsönhatásba lépnek (Ben Amira et al., 2017).

Az ilyen mesterséges úton kialakított vagy a természetes kompetíciós hálózat egyensúlyának mesterséges eltolását nevezzük biokontroll rendszernek. A rendszer célja, hogy az antagonista szervezetek képesek legyenek, olyan nagyságú populációt létrehozni, melyek a kártevők populáció egyedszámát a küszöbérték alá tudják szorítani. A rendszer kialakítása tehát olyan emberi tevékenységen alapulnak, amelyek elősegítik a meglévő vagy új ragadozó-préda, parazita-gazda kombinációkat. Az antagonista szervezetek lehetnek egyaránt mikro- és makroorganizmusok. A károsító populációkkal való interakcióik alapján lehet elkülöníteni őket, amely lehet hiperparazitizmus, predáció, antibiózis, kompetíció, indukált rezisztencia, illetve keresztvédelmi mechanizmus (Heydari & Pessarakli, 2010).

A *Hymenoptera*, a *Coleoptera*, az *Acari* és a *Heteroptera* csoportok képviselői közé tartoznak a növényvédelmi szempontból meghatározó, ragadozó életmódú rovarok többsége. A ragadozóatkák (*Amblyseius*) mezőgazdasági felhasználása számos országban elterjedt, emellett a különböző fátyolkák (*Neuroptera*) alkalmazása is meghatározó. A fátyolka lárvái egyaránt alkalmasak a zsenge levélhajtásokat megtámadó levéltetvek, atkák és hernyók irtására. A különböző fürkészdarázsfajokat (*Trichogramma* spp.), petéket

tartalmazó készítményekben hasznosítják, melyek a kártevő lepkefajok tojásait parazitálják. Más fürkészdarázs fajokat (*Encarsia formosa* és az *Aphidius colemani*) a lárva stádiumba lévő molyok, liszteskék és levéltetvek ellen vetnek be (van Lenteren, 2012).

A különböző mikroorganizmusok felhasználásának alapját a fertőzés helyén való állandó jelenlétük és az élőhelyért zajló versengés adja. Sikeresen alkalmazzák világszerte a különböző *Pseudomonas*, *Yersinia* és *Chromobacteria* fajokat, melyek a rovarkártevők táplálkozása során képesek hatásukat kifejteni. Ezzel szemben az entomopatogén gombáknak nem szükséges szervezetbe jutniuk, mivel hifáik képesek a lárvák és bábok, sőt az imágók kültakaróján is megtelepedni és áthatolni azon. A védekezésre alkalmas gombák legjelentősebb fajai a *Beauveria*, *Metarhizium*, *Verticillium*, *Lecanicillium* nemzetségekbe tartoznak. Ezenkívül kiemelendő a mezőgazdaságban már széleskörben elterjedt és alkalmazott *Trichoderma harzianum* és *Coniothyrium minitans* hiperparazita gomba fajok. (Kumar et al., 2021).

2.3.2. A biopeszticid hatóanyagok

A biológiai védekezés során nem csak magukat az élő szervezetek használhatjuk fel, hanem az általuk termelt hasznos biológiai aktivitással rendelkező vegyületeket is. Ide soroljuk a rovarok által termelt különböző feromonokat, illetve a különböző forrásból (növényi, bakteriális) származó szekunder anyagcseretermékeket is. A mezőgazdaságban a növényi hatóanyagok számos csoportját hasznosítják, például az alkaloidokat, a fenolokat, a flavonoidokat és a kinonokat (Bora and Bora, 2021).

A mindennapokból is jól ismert növények is tartalmaznak hasznos hatóanyagokat, mint például a citrom, a fahéj, a kurkuma, a rozmaring, a fokhagyma, melyek kivonatai hatékonynak bizonyultak a különböző kórokozó gombák ellen, mint az *Alternaria solani*, a *Rhizoctonia solani* és a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Lengai és Muthomi, 2018). Kiemelendő a dalmát rovarporvirágából (*Pyrethrum cinerariaefolium* syn. *Chrysanthemum cinerariifolium*) kivont piretrum, illetve a féregűző szabadillából (*Schoenocaulon officinale*) kinyert szabadilla. Az elmúlt években nagy érdeklődésre tett szert az Indiából származó örökzöld fafaj, a Neem fa (*Azadirachta indica*), melynek kiemelkedő terpenoid- és limonoid-tartalma, a legaktívabb hatóanyaga az azadirachtin-A nevű vegyület. A NeemAzal rovarölő szer gátolja a rovarok táplálkozását, továbbá csökkenti az ecdizonszintet is, ezáltal befolyásolva a vedlésüket (Usharani et al., 2019).

A feromonokat különböző célból alkalmazzák a növényvédelemben: az egyedek tömeges elfogására, a párzás gátlásra, a csalogatásra, illetve az adott faj számának meghatározására. Az ilyen célú feromon felhasználás jelentős mérföldkő az integrált növényvédelmi trendekben, ugyan is az előrejelzési rendszerek segítségével olyan hasznos információkhoz juthatnak a gazdák, mint az adott területen lévő kártevő populáció megjelenése, összetétele és rajzási csúcsai. Ezen információk segítségével a növényvédelmi beavatkozásokat pontosabban tudják időzíteni a termés megóvása érdekében (Szócs, 2016).

A világon már régóta használnak az élelmiszeriparban tartósítás céljából, illetve humángyógyászatban és a gyógyszeriparban az antibiotikumok előállítására különböző mikrobákat. A mikroorganizmusokból kb. 22.500 biológiailag aktív fungicid, nematocid és inszekticid hatású vegyületet izoláltak, melynek közel 40 %-át mikroszkópikus gombákból vonták ki. Ezek jelentős része másodlagos anyagcseretermék, változatos kémiai szerkezettel és biológiai aktivitással, melyek nem járulnak hozzá közvetlenül a szervezet növekedéséhez, fejlődéséhez vagy szaporodásához (Mosunova et al., 2021). Az első és talán a legismertebb fungicid hatású metabolitokat az 1960-as években egy gombafajból a keserű tobozfülökéből (*Strobilurus tenacellus*), a stressz hatására termelt strobilurin A és B nevű hatóanyagokat vonták ki. A természetes vegyületek szerkezetét általában foto és metabolitikus instabilitás jellemzi, ezért különböző eljárásokkal növelték a vegyületek hatásosságát. 1992-ben az első széles spektrumú strobilurinből készült szintetikus vegyülete az azoxistrobin volt, majd később még számos más vegyületet is előállítottak, mint a dimoxistrobint és a pikoxistrobint. Ezeket a hatóanyagokat ma már széles körben alkalmazzák a lisztharmatgombák, a különböző rozsdagombák és a peronoszpóra fertőzések ellen (Bartlett et al., 2002).

Fontos megemlíteni a spinozád (spinozin A-D keveréke) nevű hatóanyagkeveréket, amelyet egy talajlakó baktérium a *Saccharopolyspora spinosa* termel és számos tripsz, atka, hangya és gyümölcsleány faj ellen bizonyult hatásosnak. Jelenleg több mint 80 regisztrált növényvédő szerben található meg a spinozád hatóanyagként (Fulton et al., 2013). A szakirodalmi adatok alapján körvonalazódik, hogy már számos hatóanyagot fedeztek fel, melyek a mezőgazdaság számára is előnyösek lehetnek. A rezisztens növénypatogén törzsek ellen egyes hatóanyagok már hatástalanok önmagukban és már csak idő kérdése, hogy mikor fognak a kevert hatóanyagú peszticidek is alkalmatlanná válni. A jövőben tehát olyan hatóanyagokra lesz szükség, melyek elfogadható költségek mellett széles körben

lehet alkalmazni. Ezért kell nagyobb hangsúlyt fektetni az új kutatási irányokra és előnyben részesíteni az olyan természetes források feltárását, mint a szakdolgozatban is vizsgált termőtestes nagygombák, melyek hatóanyagainak felhasználása a növényvédelem szempontjából is fontos lehet a jövőben.

2.3.3. Bazídiumos gombák és bioaktív anyagaik

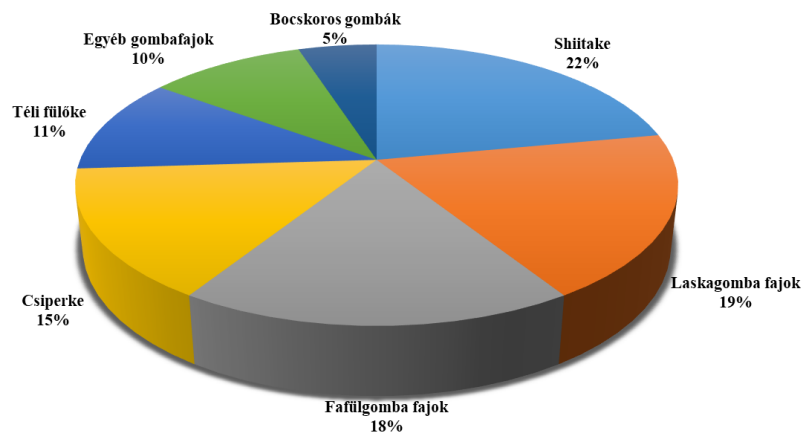
A gombák a természetben és az ember alkotta környezet számos területén megtalálhatóak, kiemelt szerepet töltenek be az ökoszisztéma működésében. A növények és állatok mellett a gombák alkotják az eukarióta szervezetek egyik legjelentősebb és legváltozatosabb csoportját. Fajszámukat a konzervatívabb megközelítés szerint 1,5 millióra becsülik, azonban az egyre bővülő ismeretek figyelembevételével elérheti a 2,2-3,8 milliót is. A jelenleg leírt és elfogadott gombafajok száma közel 120 ezer, amely jelentősen növekedhet a környezeti minták szekvencia adatainak kielemezését követően (Hawksworth & Lücking, 2017; Xu, 2016). A gombák rendszertani helyét morfológiai, élettani és fejlődési bélyegek alapján határozták meg, majd a riboszómális RNS alapú rendszerben teljesen elkülönültek a növényektől és az állatoktól is (Woese et al., 1990).

A gombákat (*Fungi*) mai ismereteink szerint négy különböző törzsre oszthatjuk fel, a két legismertebb monofiletikus (közös eredetű ős) törzsük a tömlősgombák (*Ascomycota*) és a bazídiumos gombák (*Basidiomycota*). A bazídiumos gombák egysejtű bazídiumai jól fejlett termőtestben (kalapos gombák) vagy termőtest nélkül szabadon jönnek létre (Sandargo et al., 2019). A *Basidiomycota* törzset 3 főosztály alkotja a rozsdagombák (*Pucciniomycotina*), az üszöggombák (*Ustilagomycotina*)¹ és a *Agaricomycotina*, melyek 18 osztályt, 68 rendet, 241 családot és 1589 nemzetséget, valamint 30.000 fajt foglal magában, ami az ismert gombafajok csaknem egynegyedét teszik ki (He & Zhao, 2021). A bazídiumos gombák körébe tartozik számos a kereskedelmi forgalomban lévő, ehető gomba faj is, mint a kétspórás csiperke (*Agaricus bisporus*), a shiitake gomba (*Lentinula edodes*) és a különböző laskagomba fajok (*Pleurotus* spp.), illetve a szántóföldi mikorrhiza fajok (*Boletus edulis*, *Tricholoma matsutake*) is. Vannak erősen mérgező és hallucinogén taxonok is, mint az *Amanita phalloides*, a *Galerina autumnalis* és a *Psilocybe cubensis*, valamint olyan különleges gombafajok, melyek a legnagyobb termőtesteket (*Bridgeoporus nobilissimus*) és a legkiterjedtebb micéliumhálózatot (*Armillaria gallica*) hozzák létre.

¹ a legtöbb növényi betegségért felelős mikroszkópikus gombafajok ezekbe a csoportokba tartoznak

A gombák kiváló tápértékkel bírnak, többek között alacsony zsír-, cukor-, nátrium-, és kalóriatartalommal rendelkeznek, de magas a vas, a fehérje és a rost tartalmuk. A természetben előforduló gombák csak néhány százalékát hasznosítjuk, leginkább ételünk ízesítésére, illetve a gombatermesztés fejlődésével napi étkezéseink részeként. A másodlagos anyagcseretermékeik közül számos rendelkezik meghatározó bioaktivitással (például antimikrobiális, antioxidáns). Ezáltal jó néhány a bazídiumos nagygombákból nyert kivonatot és tisztított vegyületet már hasznosítanak gyógyszeralapanyagaként, illetve mezőgazdasági biopeszticidként is (Hibbett, 2006).

A világ gombatermesztése a FAO információi alapján évente 8 millió tonna, melynek legnagyobb része a **3. ábrán** látható gombafajok között oszlik meg. A világ gombatermesztésének élén Kína áll, mivel ez az ország állítja elő a legnagyobb mennyiségben a különböző ehető gomba fajokat. Az európai országok közül Lengyelország emelkedik ki, mely Hollandiát megelőzve a legnagyobb csiperketermesztő országává vált, a jelentős technológiai, ágazati és logisztikai fejlesztéseknek köszönhetően (Ferraro et al., 2022).



3. ábra – A világ termesztett gombafajainak százalékos eloszlása

(Forrás: Raut, 2019)

Amennyiben ezekből a gombákból kinyert kivonatok hasznosnak bizonyulnak a növényvédelemben, a jövőben egy új felhasználási területe lehet az ehető gombák felhasználásának a pultron tarthatósági időt követően. A termesztett gombáknak ugyanis mindösszesen 7-10 nap a pultron tarthatósági ideje, majd onnan lekerülve a még „jó” minőségű gombákat a konzervipar vagy szárítóüzemek dolgozzák fel. Sajnos sok esetben a nem elfogadható állapotú termőtestek kidobott hulladékként végzik (Prasad Thakur et al., 2022).

3. AZ ALKALMAZOTT KUTATÁSI MÓDSZEREK

3.1. A vizsgálat tárgyát képző gombák (nagygombák)

A kísérleteink során több gombafaj kivonataival is dolgoztunk, három termesztett laskagomba és két vadon termő gombafajjal, melyek a következők voltak:

A **citromsárga laskagomba** (*P. citrinopileatus*) egy a Távol-Keleten őshonos ehető gomba faj, melyet az erestönkű laskagomba (*Pleurotus cornucopiae*) egyik változatának tartanak. Legfőképpen Kínában, Japánban és Indiában termesztik intenzív sárga színe miatt gasztronómiai célokra. Magyarországon nem jellemző a faj előfordulása, de termesztésből kivadulva helyenként előfordulhat. Elsősorban keményfák, mint a juhar, szil, kőris korhadékain összenőtt csoportban fejlődnek ki. A citromsárga laskagombát nagy mennyiségben termesztik fűrészporos zsákokon és papírhulladékokon magas esszenciális aminosav és ásványi anyagtartalma miatt. (Lee et al., 2007)

Az **ördögszekér laskagomba** (*P. eryngii*) egyedei fák korhadékain, illetve ernyős virágzatú növények elhalt gyökerei telepsznek meg, mint például az ördögszekérszerű terméséről ismert mezei iringó, melyl a gomba név adója is egyben. Ezen növények közelében októbertől decemberig réteken, legelőkön, szántóföldek perem szélein találhatóak meg. Tönkje vastag húsos fehéres színű. Tönkjéhez képest kalapja kicsi, ellaposodó vagy kissé tölcséres barna színezetű. Magyarországon az 1950-es években jelent meg a kísérleti gombatermesztésben ám jelentős áttöréseket a fajjal kapcsolatban nem érték el hazánkban (Szarvas, 2011).

A **késői laskagomba** (*P. ostreatus*) szintén lombos és tűlevelű erdőkben elhalt fák tuskóján, törzsén kagyló alakban, egymás fölött, csomókban vagy csoportosan jelenik meg. Leginkább a sérült beteg fákat támadják, egészséges fákon nem jellemző jelenlétük. A termőtest képzéshez hideghatás szükséges, ezért csak októbertől márciusig felelhetőek a természetben. Tönkje vastag, néha hiányzik, alja kissé szöszös fehéres színű. Kalapja, többnyire kagyló vagy nyelv formájú, mely eleinte domború, majd ellaposodik, jellegzetes szürkés-sárgásbarna színű. Különböző hibridjeit számos európai országban nagy mennyiségben termesztik (Csorbainé Gógán & Pék, 2011).

Már az ókorban is fogyasztott **déli tőkegomba** (*Cyclocybe cylindracea* syn. *Agrocybe cylindracea*), a harmatgombák családjába tartozik, főleg elhalt lombos fák, elsősorban nyírfa és fűzfa tuskóin megjelenő faj. Melegkedvelő, ezért csak áprilistól novemberig fordul

elő, tönkje vastag főként csoportosan nő. Kalapja domború majd ellaposodó, közepe kissé bemélyedt világos színű. Elsősorban Magyarország déli területein található. (Zhao et al., 2003).

A **téli fülőke** (*Flammulina velutipes*) egy olyan gombafaj, mely szeptembertől áprilisig kizárólag elhalt faanyagon jelenik meg csoportos formában. Felismerhető narancssárga színéről és halszerű illatáról, mely hőkezelés során könnyen elillan. Magyarországon vadon szedhető, ám Ázsiában az ötödik legnagyobb mennyiségben termesztett gombafaj. Számos kedvező tulajdonsággal rendelkezik. Gyógyhatása miatt alkalmazzák reumás, ekcémás betegségek és szívbetegségek kezelésére (Földi, 2012).

3.2. Az extrakciós eljárás

A kutatók számos extrakciós eljárást alkalmaznak a gomba hatóanyagok kivonására, melyek közül a dolgozatban szereplő kísérletekhez a metanolos kivonás módszerét alkalmaztuk. Egy összehasonlító vizsgálat során igazolták, hogy a gombákból metanollal (MeOH) valamivel több gomba hatóanyagot tudunk kinyerni (Smith et al., 2015).

A porrá őrült gombamintákat 150 mg-onként 1 ml 96 %-os MeOH-val elegyítettük. Az extrakció során és ultrahangos vízfürdőbe helyezve extraháltuk 40 percig. Az extrahált anyagot leszűrjük, majd összesen háromszor megismételtük az eljárást a visszamaradt gombaanyaggal. Ezután a szűrleteket egyesítettük és az így nyert extraktumokat -18 °C-on tároltuk. A kísérletekhez meghatároztuk a kivonatok szárazanyagtartalmát, majd beszáritottuk és 50 %-os etanollal (EtOH) állítottuk be különböző végkoncentrációkra. Az „*in vitro*” és az „*in planta*”, illetve a citotoxicitási vizsgálatokhoz 30 mg/ml, míg a csávázási kísérletekhez 15 mg/ml koncentrációkat alkalmaztunk.

A természetben kijuttatott anyagok, kivonatok valamilyen hatást fejtenek ki, nem csak a növényeinkre, hanem a környezetünkre is. A növények válaszreakciókat adnak, melyek lehetnek negatív és pozitív eredményűek. A mérgező anyagokkal kölcsönhatásba kerülő sejtek elveszíthetik a membránjuk konzisztenciáját, ami megnöveli a sejtek áteresztőképességét azok pusztulását okozva. Ebből kifolyólag vizsgáltuk a gombakivonatok esetleges növényekre gyakorolt hatását, mind az egész növény, mind pedig a magok esetében. A különböző anyagoknak lehet olyan hatása, mely a növényi szövetekben apoptózist azaz programozott sejthalált indukál, jelentősen befolyásolva a vizsgálati eredményeinket.

3.3. Az felhasznált mikroorganizmusok és tenyésztési körülményeik

A felhasznált mikroorganizmusokat és a különböző paramétereket az **1. táblázat** tartalmazza. Az egyes mikroorganizmusoknak a gazdanövénykör alapján, lehet csak egy tápnövényes (monofág), vagy egy adott nemzetségbe tartozó összes növényre kiterjedő (oligofág) illetve nagyon különböző növénycsoportokat (polifág) is fertőző. A kísérletek során a kórokozók számára a megfelelő fejlődés és a sikeres fertőzés érdekében optimális hőmérsékletet biztosítottunk, illetve a tenyésztésükhöz különböző tápközegeket használtunk. A táptalajok receptúráit a terjedelmi korlátok miatt az **I. melléklet** tartalmazza.

1. táblázat – A felhasznált mikroorganizmusok és egyes jellemző paramétereik

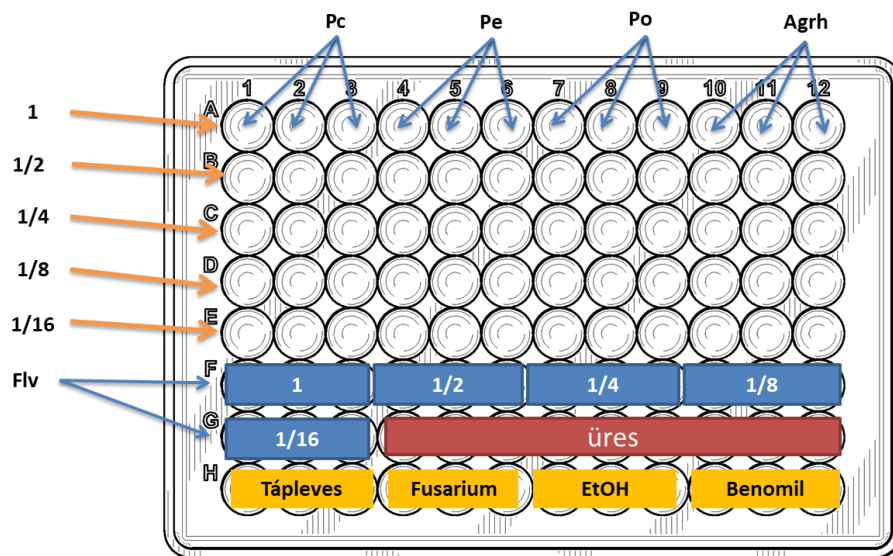
Mikroorganizmus latin neve	Okozott betegség Gazdanövénykör	Törzs megnevezése	Táptalaj típusa	Inkubációs hőmérséklet	Forrás
Tobacco mosaic virus (TMV)	mozaikosodás dohány, a legkiterjedtebb gazdakörrel rendelkezik	U1	TMV-vel fertőzött Samsun dohányról	30°C	(Ohtsubo et al., 1999)
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i>	baktériumos levélsíkoság bab	MCAIM B 01294	NB	37°C	(Ayyachamy et al., 2007)
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tabaci</i>	baktériumos dohányvész dohány	H10	King B	28°C	(Haidar et al., 2020)
<i>Ralstonia solanacearum</i>	bakteriális hervadás dohány, paradicsom	UW551	CPG	29°C	(Caruso et al., 2005)
<i>Botrytis cinerea</i>	szürkerothadás napraforgó	H-1069	LB	20°C	(Samuel et al., 2012)
<i>Phytophthora nicotianae</i>	gyökérrothadás dohány, hagyma, paradicsom,	H-1/00	LB	22°C	(Ahonsi et al., 2007)
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	barna levélfoltosság árpa	H299	LB	24°C	(Poudel et al., 2019)
<i>Fusarium avenaceum</i>	szárkorhadás, csőpenészesedés kukorica	IMI319947	LB	28°C	(Farbei and Sanders, 1986)

3.4. A mikrobiológiai paraméterek meghatározása

A kísérletek során vizsgáltuk a kivonatok növénypatogén kórokozó baktériumokra és gombákra kifejtett gátló hatását. A MIC-értékek meghatározásához több módszer is alkalmazható ezek közül klasszikus mikrobiológiai mikrohígítási vizsgálatok segítségével felmérjük a hatásos koncentrációt.

A gátló hatás vizsgálatokat 96 lyukú mikrolemezekben (Greiner Bio-One, Kremsmünster, Ausztria) végeztük el, a baktériumszuspenziók koncentrációját

10^5 CFU/ml-re állítottuk be denzitométer segítségével. A mikrolemezek egyes lyukaiban 5 μ l-nyi gombakivonatot pipettáztunk, illetve felező hígítási sort készítettünk a mikroplate oszlopaiban EtOH-val, ehhez adagoltuk a korábban már beállított baktériumszuszpenzióból 145 μ l-t. A mikrolemez legalsó sorában három ismétlésben pipettáztunk tiszta táplevest, a baktériumszuszpenziót, az ETOH-t és a megfelelő pozitív kontrollként alkalmazott antibiotikumot. A **4. ábrán** látható a *Fusarium avenaceum*-mal gombával végzett kísérlet elrendezése. Az adott mikroorganizmusnak a megfelelő hőmérsékletre beállított (**1. táblázat**) mikrolemez rázóba helyeztük a lemezt és 24 órán keresztül inkubáltuk azt.



4. ábra – A minták elrendezése a mikrolemezben (*P. citrinopileatus* – Pc, *P. eryngii* - Pe, *P. ostreatus* – Po, *C. cylindracea* – Agrh, *F. velutipes* – Flv)
(Forrás: Vámosi, 2022)

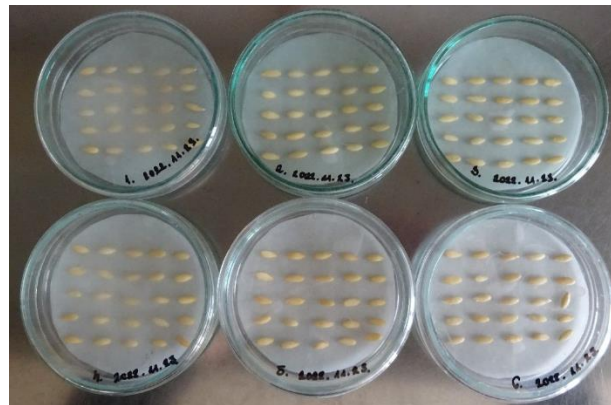
Az inkubációt követően microplateolvasóba helyeztük a lemezeket és 630 nm-es hullámhosszon mértük az abszorbanciáját az egyes lyukaknak. Ezzel vizsgálva a különböző mikroorganizmusok esetleges növekedését. A kapott adatokat Excel táblázatban gyűjtöttük össze.

3.5. A kivonatok növényre gyakorolt hatása

„Az extrakciós eljárás” című fejezetben bemutatott okok miatt, az öt gombakivonattal *Nicotiana tabacum* cv. *Xanthi* dohányleveleken végeztünk el a citotoxicitás vizsgálatot. A gomba extraktumokat (30 mg/ml) ecset segítségével vittük fel az üvegházban nevelt ötleveles állapotban lévő dohánylevelek (3-3 db) bal oldalára. Az extraktumok rászárítását

követően a növényeket növénynevelő kamrába helyeztük, majd 24, 48 és 72 órával később lefotóztuk a kezelt leveleket.

A kultúrnövények magjainak egyik legjelentősebb élettani tulajdonsága a csírázókéesség, mely képet ad arról, hogy az elvetett magokból hány egészséges növény fejlődik ki. A vizsgálathoz uborka (Perez F1) Hermes vetőmagokat használtunk fel, melyeket ellenőrzött forrásokból szereztünk be. A vizsgálatokat előre megtervezett elrendezésben valósítottuk meg. A magokat átválogattuk, hogy csak az ép és egészséges maghéjú szemeket használjuk fel. A válogatás után előkészítettük a vetőmagokat, azaz steril Petri-csészébe helyeztük őket és 96%-os EtOH-ban 1 percen keresztül ráztuk, hogy lefertőtlenítsük a felületüket. Az előkészületek után 25-25 db magot ecset segítségével kezeltünk le a gombakivonatokkal (15 mg/ml). Kontrollként 50 %-os EtOH-ot alkalmaztunk az oldószer hatás kizárásának érdekében (**5. ábra**).



5. ábra - A gombakivonattal kezelt uborka magok Petri-csészében való elrendezése
(Fotó: Vámosi, 2022)

A Petri-csészék aljára egy darab steril szűrőpapírt helyeztünk el, melyet 2 ml steril csapvízzel nedvesítettünk meg. A lezárt Petri-csészéket ezután 20 ± 1 °C-os termosztátban inkubáltuk. A csírázó magvak számát 6 napon keresztül napi rendszerességgel figyeltük és fotóztuk, illetve szükség esetén visszapótoltuk az elpárolgott, illetve a magok által felhasznált vizet.

3.6. Növények fertőzési kísérletei és monitorozása

A kísérletek sikeres megvalósításához egyes paraméterek beállítása szükséges, tehát tisztáznunk kell az vizsgálatok során beállított kísérletek egyes elemeinek arányát vagy mennyiségét. A különböző tesztorganizmusok használatával effektív hatást kell kiváltanunk

a növényekben, hogy lássuk, hogy az adott organizmus fertőzőképességét, illetve az alkalmazott kezelések hatásosságát. A különböző kórokozók vizsgálatához tehát különböző előkísérleteket végeztünk, hogy meghatározzuk a megfelelő kezelési időtartamokat és mennyiségeket.

A vírusfertőzés modellezéséhez dohánymozaik vírust (*Tobacco Mosaic Virus* - TMV) alkalmaztunk. A különböző biopeszticidek a környezetben általában gyorsan lebomlanak, ezáltal a hatóidő mellett az ismételt kezelések hatásának ismerete is fontos paraméterek. A tartam kísérlet során azt vizsgáltuk, hogy az adott gombakivonatnak van-e hatása 0-24-48-72-96-120 óra elteltével. A kísérlethez naponta új dohánynövények (*Nicotiana tabacum* cv. *Xanthi*) 5-5 levelét kezeltük a gombakivonatokkal hat napon keresztül. Megjegyzendő azonban, hogy a dohánynövények azonos volt a vetésidejük, így a teljes felhasznált növényállomány közel azonos fiziológiai állapotban volt. A tartamkísérlet mellett az ismételt kezelés hatását is vizsgáltuk, kiválasztott dohánynövények leveleit kétnaponta újra ecseteltük a gombakivonatokkal. A hatodik napon végeztük el a 0. órás kezelést, illetve az ismételt kezeléseket is, továbbá újabb dohánynövények bevonásával az eredeti koncentráció mellett $\frac{1}{2}$ és $\frac{1}{4}$ hígításokat is alkalmaztunk. Amint végeztünk az ecseteléssel és szárítással, fertőztük a teljes állományt dohánymozaik vírussal.

Az előkísérletek eredményei alapján a következő kísérleti elrendezést alkalmaztam a vírusos (TMV) fertőzési kísérletek során. A kísérletek során ötleveles állapotban lévő dohánynövények három-három levelét használtuk fel, felülről számolva az első teljes érettségű levelet. Annak érdekében, hogy a levelek elhelyezkedéséből adódó különbségeket kiegyenlítsük és ezáltal az eredmények megfelelőek legyenek, a gombakivonatokkal való kezelések elrendezését (**Melléklet II.**) randomizált módon valósítottuk meg (MDN Web Docs, 2022). A számozás után a kivonatok 30 mg/ml koncentrációját felvittük a levéllemez baloldali felére ecset segítségével, míg a jobboldali levéllemez kezeletlenül hagytuk (kontroll). Az ecsetelés módszerét a felületre való hatékonyabb felvitel és kisebb mértékű anyag felhasználás miatt választottuk. A dohány mozaik vírusfertőzéshez a dohány növényeket Binder típusú növénynevelőkben akklimatizáltuk megfelelő hőmérsékleten és megvilágításban.

A továbbvitel elkerülése és a sterilitás fenntartása érdekében betartottuk az előírásokat, fertőtlenítettük a felületeket, gumikesztyűt és védőszemüveget viseltünk. Az üvegházban nevelt és dohány mozaik vírussal előzetesen bedörzsölt és megfertőződött *Samsun* fajtájú dohány növényekről 4-5 darab mozaikos tünetet mutató levelet lecsíptünk. A leveleket

mozsárba helyeztük és 500 ml desztillált víz hozzáadásával dörzsöltük el, az eldörzsölt anyagot, egy polipropilén szűrőbetétes fecskendőn átszűrtük. A vírust tartalmazó szűrletet egy 10-es méretű ecset segítségével vittük fel a levelek színére. A növényeket a fertőzést követően, visszahelyeztük a növénynevelő kamrákba és 12 óránként ellenőriztük a növényeket. A sikeres fertőzés során a dohánynövény levélen nekrotikus léziók jelentek meg, a léziók megjelenését követően a növényeket átnéztük, hogy minden növényen jelentkeznek-e a tünetek. A fertőzött leveleket eltávolítottuk a növényekről és lefotóztuk, majd összeszámoltuk a kezelt és a kezeletlen oldalakon lévő léziókat.

3.6.1. Konduktivitás mérés

Napjainkban általánosan elterjedt módszer az elektrolitoldatok elektromos vezetőképességének, konduktometriás mérése (**6. ábra**), melyet széles körben alkalmaznak a növényekben lezajló folyamatok tanulmányozására is. A növényi sejtek permeabilitása megnő különböző behatások (fizikai, kémiai, biológiai) következtében, így sejtekben lévő ionok a sejt közötti térbe kerülhetnek, ezáltal az adott szövet vezetőképessége jelentősen megnő. Az ilyen mérések alkalmával tehát a fertőzés súlyosságának mértékéről kaphatunk információkat egy objektív mérőszám (μS – mikrosiemens) segítségével.



6. ábra – A hatlyukú lemezekbe helyezett dohánylevél korongok a konduktivitás mérése során (Fotó: Vámosi, 2022)

Kísérletünk esetében a gombakivonattal kezelt és különböző ágensekkel fertőzött (TMV és *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*) dohány növények leveleiből dugófűrő segítségével öt darab 11,6 mm-es korongot vágtunk ki majd, 10 ml desztillált vízbe helyeztük őket, mindezt a **6.ábra** szemlélteti. A mérések közvetlenül a desztillált vízbe helyezés után történtek, mely során 3 technikai és 3 biológiai ismétlést mérését végeztük el.

3.6.2. Baktérium visszaizolálási kísérletek

A kivonatok vizsgálatai során baktériumok visszaizolálását is elvégeztük növényi szövetekből. A kezelések hatásosságát számszerűsíteni tudtuk a telepszámok segítségével. A kapott adatokból következtetni tudunk arra, hogy az adott kezelés csökkentette (biocid), szinten tartotta (biosztatikus) vagy épp serkentette a baktériumok mennyiségét. Ezen információk pedig jól kiegészítették a konduktivitás mérésből származó eredményeket.

A visszaizolálási kísérletek során ötlevelű fejlettségi állapotot elérő dohánynövények leveleit használtuk fel. A vizsgálat során hasonló módon jártunk el, mint a vírusfertőzéses kísérleteknél, tehát randomizált módon kezeltük le az egyes leveleket (**Melléklet III.**). A vizsgálathoz *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* patogén baktérium H10-es törzset King's B táptalajon 27 °C-on kitenyésztettük, majd a táptalajról lelángolt kacs segítségével egységnyi baktérium mennyiséget szedtünk le. A baktérium koncentrációját fotométer segítségével OD=0,21-re állítottuk be 10 mM-os MgCl₂ oldatban, ami kb. 10⁸ CFU/ml. Ezt hígítottuk százszorosán, így 10⁶ CFU/ml-re állítottuk be baktériumszuszpenzió koncentrációját. A beállított koncentrációjú szuszpenziót fecskendő segítségével a növények baloldali levéllemez fonáki részébe fecskendeztük be. A fertőzést követően a növényeket növénynevelőkben kamrában 48 órán keresztül 30°C-on egyenletes megvilágításban inkubáltuk. Az inkubációs idő elteltével a növények kezelt leveleiből dugófűró segítségével növényenként tizenöt darab korongot vágunk ki. A korongokat ötösével dörzsmozsárba raktuk, majd 500 µl MgCl₂ hozzáadása után eldörzsöltük. Az eldörzsölt szuszpenzióból 20-20 µl-nyit pipettáztunk 180 µl MgCl₂ oldatban, majd 10x-es hígítási sort készítettünk. A hígítási sor 10², 10³ és 10⁴-es tagjából 10-10 µl-nyit pipettáztunk kanamycines King B agarlemezre és kacs segítségével szélesztettük. Az agarlemezeket 27°C-on inkubáltuk, majd 12 óránként ellenőriztük a baktériumtelepek fejlődését. Ahogy láthatóvá váltak a telepek leszámoltuk azokat és az adatokat egy Excel táblázatban összesítettük.

3.6.3. Csávázási kísérletek

A növénytermesztés ágaztában a vetőmagok csávázása a régóta bevált növényvédelmi technológiák közé tartozik, melynek egyik elsődleges feladata, hogy megelőzzük vetőmagjaink fertőződését a talajlakó patogén gombákkal szemben. Érdekes kérdésként merült fel, hogy az egyes gombakivonatok alkalmasak-e a csávázásra. A csávázási kísérleteket azonos módon végeztük el, mint ahogy azt már leírtuk a „*A kivonatok növényre gyakorolt hatása*” című fejezetben. A különbséget a fertőzés jelentette, mely során a

különböző gombatörzsekkel átszövetett PDA/sárgarépalé agarlemezekre helyeztük a kezelt uborkamagokat (**7. ábra**) és 24 órán keresztül 21°C-on fénymentes körülmények között inkubáltuk (21 °C) majd a korábban már leírt módon csíráztatást végeztük.



7. ábra – Az uborkamagok fertőzésére alkalmazott módszer

(Fotó: Vámosi, 2022)

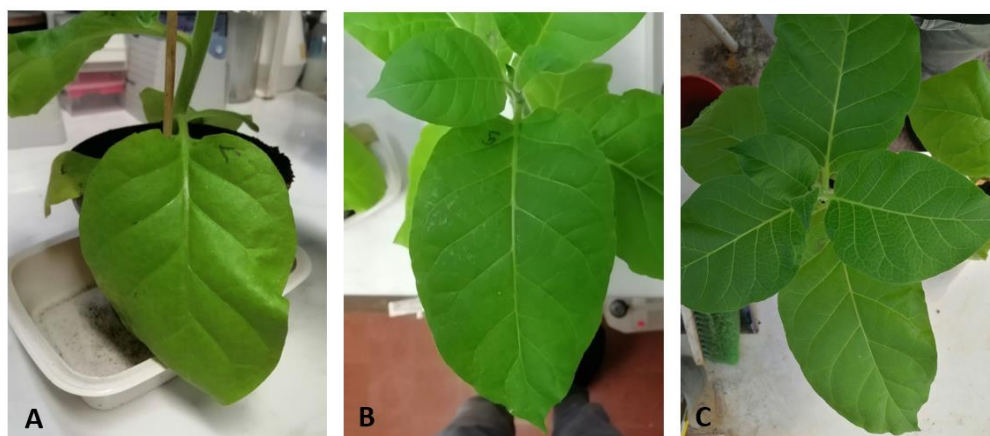
3.7. Statisztikai módszerek

A kísérletek során három egymástól független biológiai ismétel mellett három technikai ismételssel dolgoztunk. Az adatokat összesítettük Excel-táblázatokban, majd elemeztük Statistica 13.3-ás (TIBCO Software Inc., 2017) program segítségével. A statisztikai elemzés során meghatároztuk az adatok eloszlását, átlagát, szórását, minimum és maximum értékeit. A TMV kísérletek esetében egyszerre voltak összetartozó (azonos levélen kezelt és kezelés nélküli oldal) és független mintáink (a különböző gombakivonatokkal végzett kezelések). Az összetartozó mintáknál az léziószám átlagokat hasonlítottuk össze páros t-próbával, míg a független kezelések esetében varianciaanalízist és Tukey *post-hoc* tesztet alkalmaztunk. A baktériumfertőzéses kísérletekből nyert vezetőképességi adatokat ANOVA-val, illetve Tukey *post-hoc* próba segítségével elemeztük.

4. EREDMÉNYEK

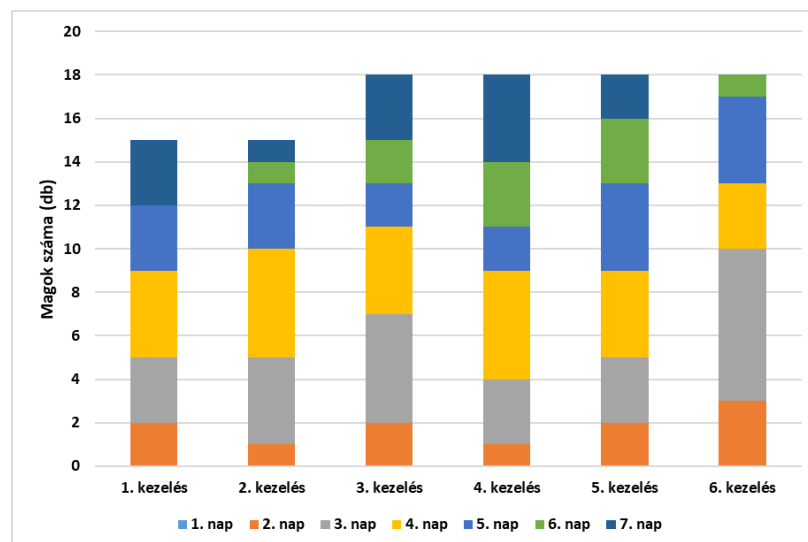
4.1. A kivonatok növényekre és magokra gyakorolt hatása

A kivonatok citotoxikus hatásainak vizsgálatához a legegyszerűbb megoldást alkalmaztuk, mely alacsony eszközigényű, könnyen megvalósítható vizsgálat volt. A gombakivonattal lekezelt leveleket megfelelő közegben tartva három napon keresztül vizsgáltuk és napi rendszerességgel fotóztuk. 24 óra elteltével a gombakivonatok extraktumai jól látható réteget képeztek a levéllemez bal oldalán, de ezen kívül nem tapasztaltunk semmilyen elváltozást. 48 óra elteltével a növények egészségesek voltak, nem tapasztaltunk látható elszíneződést vagy egyéb deformációt. Ugyanezt a következtetést vontuk le 72 órát követően is, vagyis a dohánynövények nem mutattak szemmel látható tüneteket, épek és egészségesek voltak (8. ábra).



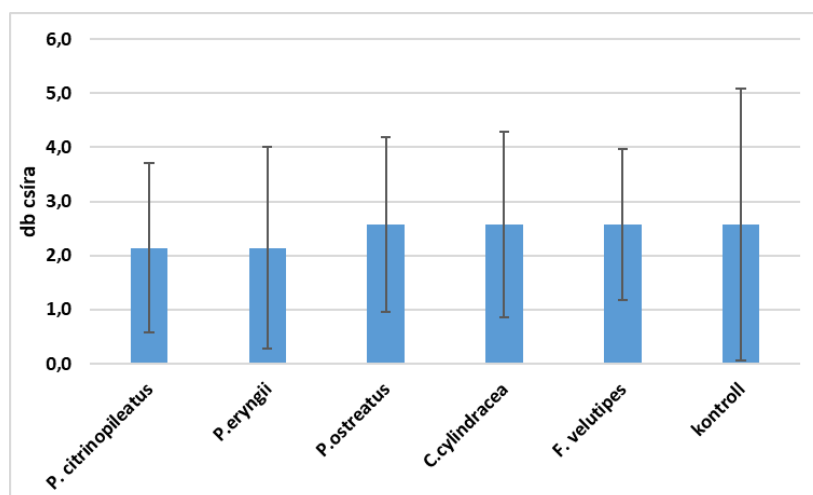
8. ábra – A kivonatokkal kezelt levelek 24 óra (A), 48 óra (B), 72 óra (C) elteltével
(Fotó: Vámosi, 2022)

Megállapítható tehát, hogy a dohánynövények nem érzékenyek a gombakivonatokra és a kivonatokban található vegyületekre (legalábbis ebben a koncentrációban). Nem volt megfigyelhető káros hatás a növényekre hosszabb expozíciós idő elteltével sem. Emellett a kivonatok magokra gyakorolt csírázására hatását is vizsgáltuk. A kísérlet során egy héten keresztül naponta leszámoltuk a kicsírázott magokat, majd Excel táblázatba rögzítettük az adatokat. Az összesített adatok az **9. ábra** mutatja be, melyen jól látható kezelésekre lebontva a napi kicsírázott magok száma.



9. ábra – Perez (F1) fajtájú uborkamagok csírázása a csávázást követően (1 – *P. citrinopileatus*, 2 – *P. eryngii*, 3 – *P. ostreatus*, 4 – *C. cylindracea*, 5 – *F. velutipes*, 6 – kontroll)

A csírázási erély vizsgálata során egyértelműen megállapíthatjuk a magok csírázási erélye korlátozott, mivel a 25 db magból a kontroll esetében is csupán 18 db mag csírázott ki, ez 72 %-nak felel meg. A különböző kivonatok közül a *P. citrinopileatus* (1. kezelés) és a *P. eryngii* (2. kezelés) befolyásolta a csírázást, mivel csupán 15 mag csírázott ki (60 %-os csírázási erély). A **10. ábra** szemlélteti a napi átlag csíraszámot, ami az 1. és 2. kezelésnél mutat alacsonyabb átlag értékeket, ám sehol nem látható számottevő eltérés a kontroll (6.) kezeléshez képest.



10. ábra – Az uborka magok csírázásnak napi átlagának és szórásának alakulása a csávázást követően (1 – *P. citrinopileatus*, 2 – *P. eryngii*, 3 – *P. ostreatus*, 4 – *C. cylindracea*, 5 – *F. velutipes*, 6 – kontroll)

A napi csírázott magok száma alapján a kontroll magok és a különböző kivonatokkal kezelt magok hasonló módon csíráztak, azonban a szórás értékek alapján egyes kezelések kiegyenlítettebb csírázást tettek lehetővé (3. és 5. kezelés), míg más kezelések esetében nagy szórások voltak láthatóak (2. és 4., illetve a kontroll esetében).

4.2. Vírusos kísérletek eredményei

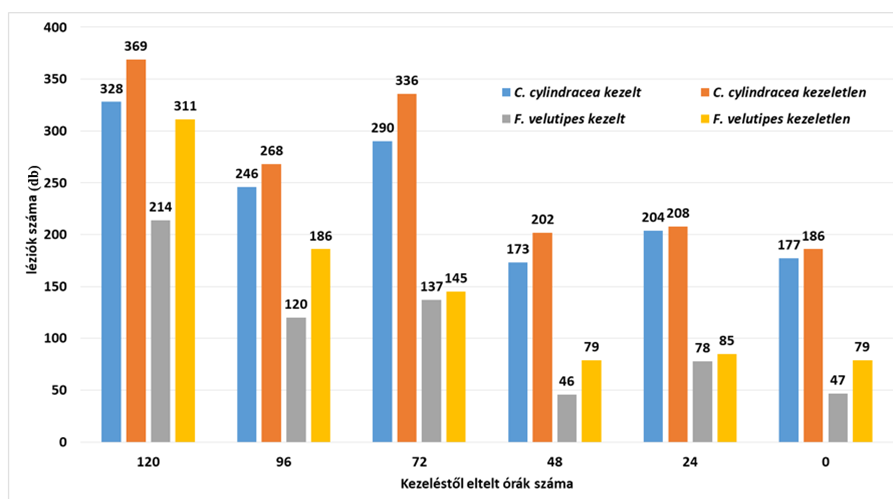
A TMV-vel való kísérletezés tervezésénél a fertőzésekhez a gyakorlatban általánosan alkalmazott módszert (fertőzött levél eldörzsölése desztillált vízben és felvitele a megfertőzni kívánt levélre) vettük alapul, melynek a gyorsaság és a könnyű kivitelezés az előnye. Azonban ezzel a módszerrel egyes paraméterek például a levelekre vitt vírus mennyisége és denzitása is jelentősen különböző lehet a levél egyes részein (**11. ábra**). Az előkísérleteink során a gyakorlatban alkalmazott módszert használtuk, majd a beállított és randomizált éles kísérletek során (melyeknél több adatot is felvettünk) egy letisztultabb, de több előkészítést igénylő módszert alkalmaztunk.



11. ábra – A TMV fertőzés során tapasztalt probléma dohánylevélen

(Fotó: Vámosi, 2022)

Az előkísérletek során egy-egy kivonattal kezelt növény esetében komoly problémát okozott a vírus túlzott mennyisége, mivel a léziók összeolvadása miatt a léziókat sem tudtuk megszámolni, így egyes kezelt levél nem volt értékelhető. A 6 napos tartam kísérlet végén a kezelt levelek mindkét oldalán megjelenő léziókat leszámoltuk és összehasonlítottuk egymással. A könnyebb követhetőség kedvéért két kezelés eredményét mutatjuk be a **12. ábrán**.

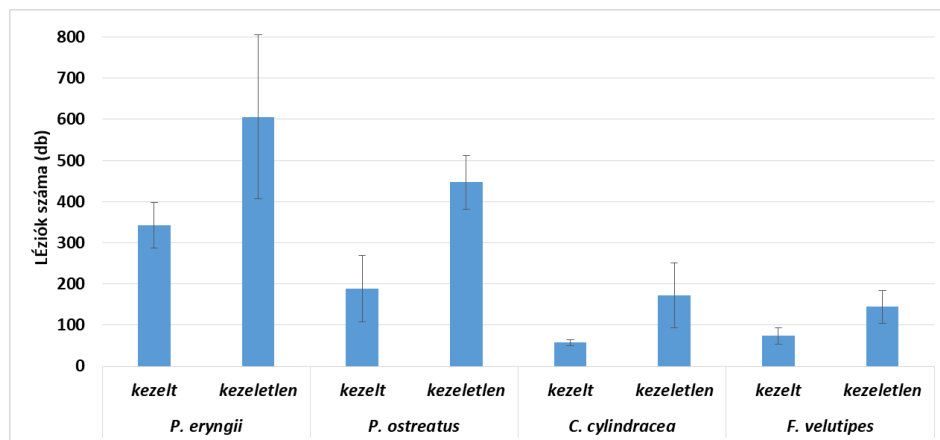


12. ábra – A TMV-vel fertőzött leveleken számlálható léziók számának alakulása a különböző gombakivonatokkal történő kezelések hatására a hatnapos tartamkísérlet során

Az **12. ábrán** jól látható, hogy az összes kezelés abszolút értelemben alacsonyabb lézió számot produkált a kezelt oldalon (átlagosan 9 % a *C. cylindracea*, és 28,1 % a *F. velutipes*). A laskagomba kivonatok átlagosan 7-10 %-kal csökkentették a léziószámot az összes kezelést figyelembe véve. Az idő előrehaladtával azonban az is látszik, hogy a vírust szuppresszálo hatás mértéke csökken és a léziók száma a 48 és 72 órás kezelés között jelentősen megnő (közel 203%-ra), mind a kezelt, mind pedig a kezeletlen oldalon, ez a *F. velutipes* kivonatnál kifejezettebb (emelkedés mértéke a kezelt oldalon közel 298 %). A legnagyobb mértékű gátlást (az összes léziószámot figyelembevéve) a kezelés után közvetlenül kaptuk mindegyik kezelés esetében (gátlás mértéke meghaladta a 15%-ot), azonban a 24 órával korábban kezelt növények esetében is jól kontrollált a fertőzés mértéke (ez 5% körül mozog). A fordulópontot a 48. óra jelentheti, mivel ezt követően a gátlás mértéke csökken (47%-kal) az összes. léziószámot tekintve, azonban a kezelt és kezeletlen oldal közötti különbség megmaradt, sőt egyes esetekben nőtt is (átlagosan a *P. citrinopileatus* – 12%, a *P. eryngii* – 29%, *P. ostreatus* – 9%, *C. cylindracea* – 11%, a *F. velutipes* – 24,1%).

Az ismételt kezelések alkalmazása fontos növényvédelmi szempontból, de egyes hatóanyagok ismételt kijuttatása perzselődést, elszíneződés vagy épp hervadást okozhat a növényállományban. Kísérleteinkben az ismételt kezelések növényre, valamint a vírusfertőzésre történő hatást is vizsgáltuk. Az ismételt kezeléseket 2 naponta végeztük el, összesen három alkalommal. A léziók számának alakulását a **13. ábrán** mutatjuk be. A

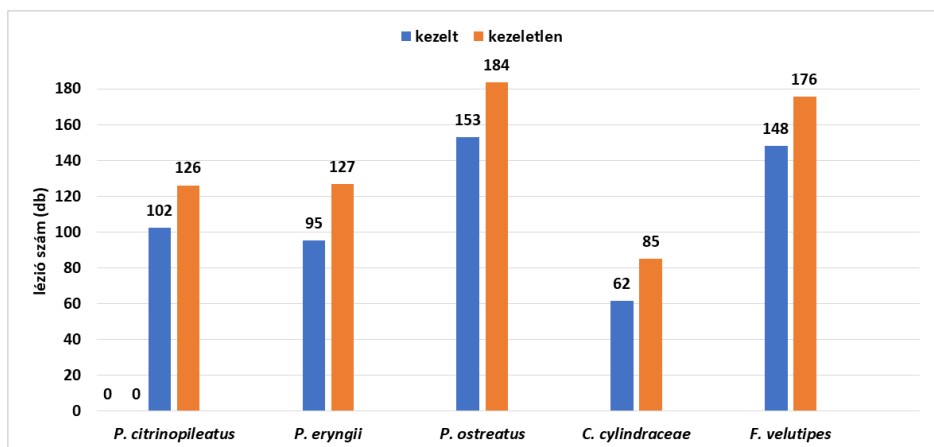
kapott adatokat Shapiro-Wilk normalitás tesztel vizsgáltuk, a p-érték 0,208, az adatok normális eloszlásúak, tehát elvégezhető volt a kétmintás t-próba.



13. ábra – Az ismételt kezelések hatása a TMV fertőzésre négy gombafaj esetén (átlag±szórás), a léziószámok szignifikánsan eltértek egymástól a kezelt és a kezeletlen oldalon ($p < 0,05$)

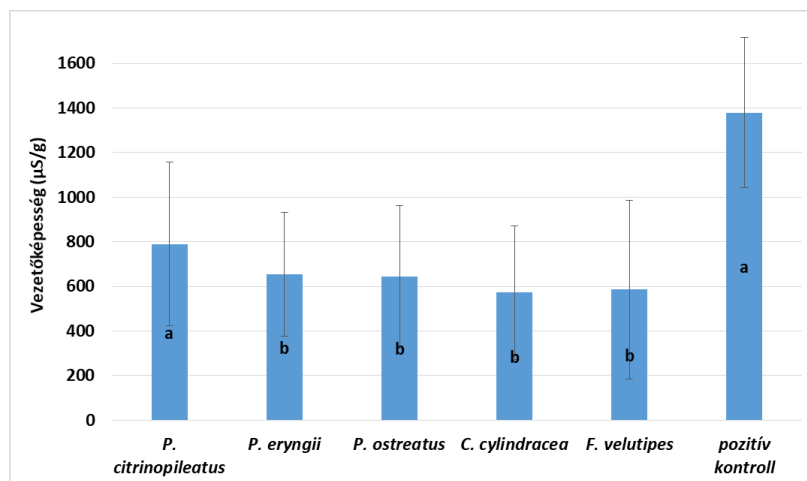
Az ismételt kezeléseknek nem volt negatív hatása a növényekre, a léziókon kívül nem tapasztaltunk más szabad szemmel látható tünetet a növényeken. A **13. ábrán** látható, hogy az egyes kezelések közel $49,6 \pm 9,21$ %-kal csökkentették a léziók számát. Ez a csökkenés jelentősebb volt, mint a korábban bemutatott egyszeri kezelések, tehát az ismételt kezeléseknek fokozottabb vírus elnyomó hatásuk van. Az adatokat két mintás t-próbával is teszteltük, és igazoltuk a szignifikáns különbséget a kezelt és kezeletlen levéloldalak között.

Az előkísérletek során a fertőzési protokoll kidolgozásra került, melyet a módszertani részben már bemutattam. Ezt követően a kezeléseket már nagyobb számú levélen végeztük el és a léziók számolása mellett a vezetőképességet is mértük. A változtatásoknak köszönhetően (szűrés, azonos koncentrációra beállítás, ecsettel való felvitel) a léziók száma kiegyenlítettebbé vált (**14. ábra**). A különböző korú levelek között azonban komoly különbségek mutatkoztak. Ezt a megfigyelést korábban már számos kutató is igazolta különböző fertőzések esetén (Coelho et al., 2009; Farber és Mundt, 2017; Visker et al., 2003).



14. ábra – A TMV-vel fertőzött leveleken számlálható léziók számának átlaga a különböző kezelések hatására, a kezelt és kezeletlen oldalon

A kezelések minden esetben alacsonyabb léziószámot eredményeztek. Kétmintás t-próbával vizsgáltuk, hogy a kezelt és kezeletlen levelek oldalainak átlagai között van-e szignifikáns eltérés. A statisztikai próba eredményeként a p-értéke: 0,000014 volt, tehát a vizsgált levéllemezek kezelt és kezeletlen oldalain található léziók számának átlagai között szignifikáns eltérést mutattunk ki. A **14. ábrán** nem tüntettük fel a szórásokat, mivel azok feltüntetése nem releváns, ugyanis a különböző fejlettségű leveleken erősen eltérő számú lézió volt látható, egyes leveleken nem egy esetben 200 fölött számláltunk, míg a fiatalabb levelek esetén volt olyan kezelt oldal, melyen csupán 16 db lézió jelent meg. Arányaiban nézve az egyes kezelések átlagosan $20,7 \pm 5\%$ -kal alacsonyabb léziószámot eredményeztek a kezelt oldalon, a csökkenés mértéke és aránya alapján feltételezhető, hogy az öt vizsgált gombafaj mindegyikében található egy azonos komponens, mely antivirális hatással rendelkezik, melyet a vezetőképességi vizsgálatok is alá támasztották (**15. ábra**).

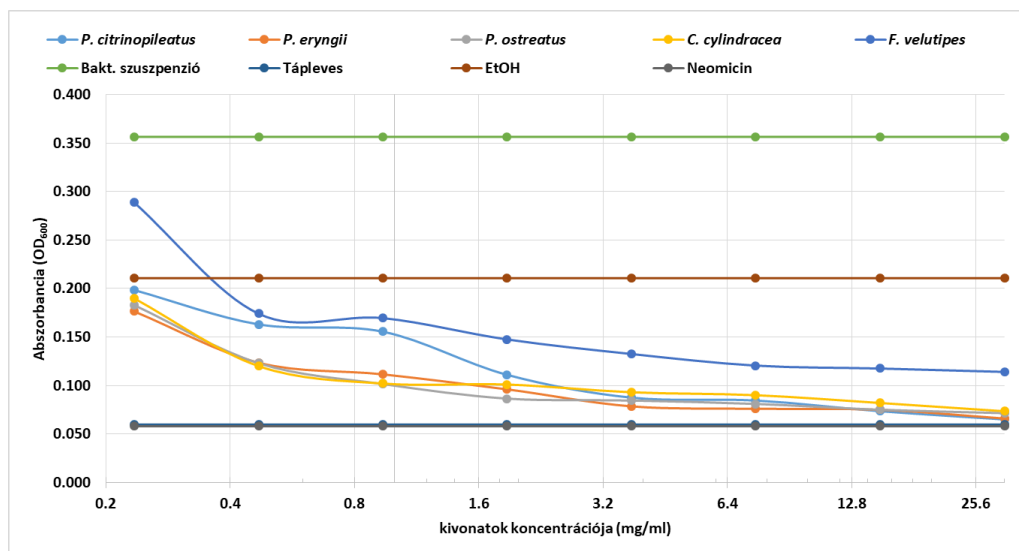


15. ábra – A TMV fertőzést követően mérhető konduktivitás (átlag±szórás) értékek, az eltérő betűk a szignifikáns különbséget jelzik ($p < 0.05$)

A konduktivitás mérések jóval kiegyenlítettebb eredményeket mutattak. Varianciaanalízissel vizsgáltuk az egyes kezelések közötti szignifikáns különbségeket. A citromsárga laska gomba (*P. citrinopileatus*) eredményei ugyan nem különböztek a pozitív kontroll esetén mért eredményektől, azonban a másik négy gombakivonattal kezelt minták szignifikánsan alacsonyabb értéket mutattak. Ez annyit jelent, hogy a négy kivonat (*P. eryngii*, *P. ostreatus*, *C. cylindracea* és *F. velutipes*) gátolta a vírus szaporodását, mely révén kisebb szöveti károsodás volt kimutatható. A konduktivitási értékek alapján átlagosan $53 \pm 6,2$ %-kal alacsonyabb volt a szövetkárosodás mértéke, mint a pozitív kontroll esetében.

4.3. A bakteriális és a fungális *in vitro* kísérletek eredményei

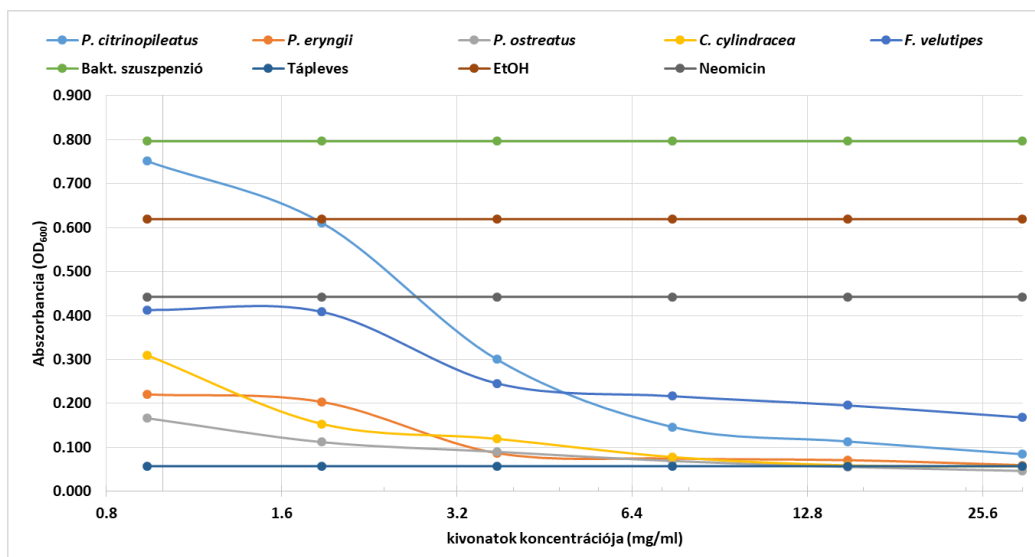
Jelen dolgozat keretein belül *in vitro* körülmények között vizsgáltuk, hogy a gombakivonatok mennyire hatásosak különböző növénypatogén ágensek ellen. Az előzetes várakozásoknak megfelelően egyes növénypatogén baktérium- és gombatörzset is gátoltak a kivonatok, azonban nem azonos mértékben (**16., 17., 18. és 19. ábrák**). A **16-19. ábrán** különböző színű vízszintes vonalakkal ábrázoltuk az egyes pozitív és negatív kontrollhoz tartozó értékeket a könnyebb áttekinthetőség miatt.



16. ábra –A vizsgált gombakivonatok *X. campestris* pv. *phaseoli* (*Xcp*) kórokozóra gyakorolt hatása

A **16. ábrán** jól látszik, hogy az *Xcp* növekedését a legnagyobb koncentrációban (30 mg/ml) mindegyik kivonat gátolta, azonban a kisebb koncentrációknál, már jól mérhetően növekedett a baktérium. Ez alól kivételt képzett a téli fülőke és a citromsárga laskagomba, melyek kevésbé gátolták a baktérium szaporodását, vagyis a legnagyobb koncentrációban alkalmazott kivonat esetén is növekedett a baktérium. Ezek a kivonatok, ezekben a koncentrációkban nagy valószínűséggel csupán bakteriosztatikus hatást mutattak, a neomicinhez képest, mely bizonyítottan baktericid hatású volt a *Xcp*-re. További vizsgálatok segítségével lehetett volna következtetni a tényleges hatásra (MBC vagy MIC), amennyiben a lemez megfelelő lyukaiból, táptalajra szélesztettünk volna.

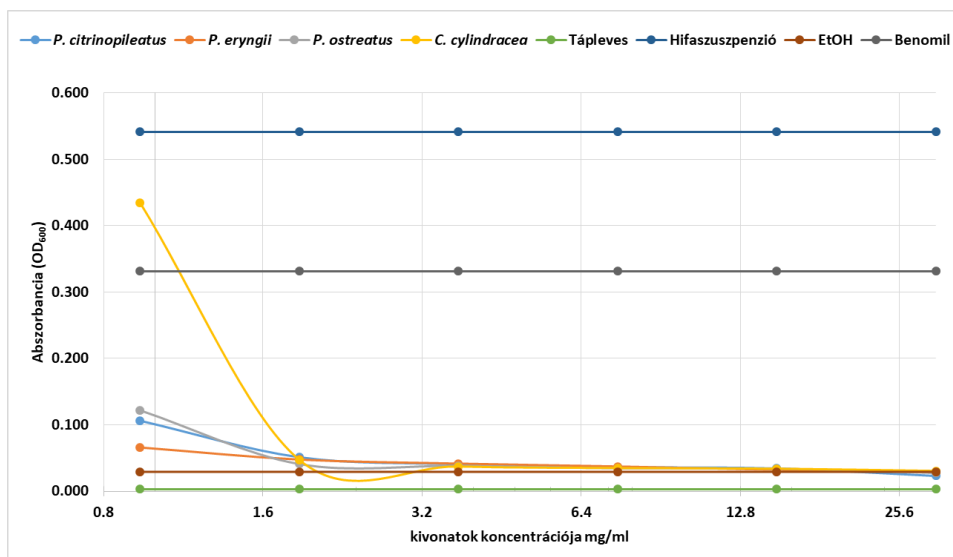
A vizsgálatokban olyan baktériumtörzseket is alkalmaztunk, melyek karantén kórokozóknak minősülnek, így a velük való munka során a szigorú előírások betartása mellett dolgoztunk. Ilyen baktériumtörzs volt a talajlakó *Ralstonia solanacearum* (*Rs*) is, mely a burgonyafélék egyik legveszélyesebb kórokozója. Az *in vitro* kísérletünk eredményét a **17. ábrán** mutat be.



17. ábra – A vizsgált gombakivonatok *Ralstonia solanacearum* (Rs) kórokozóra gyakorolt hatása

Az *Rs* ellen már igen változatos képet mutattak a különböző kivonatok, míg egyes kivonatok jelentős mértékben gátolták a baktérium növekedését (*P. ostreatus* vagy a *P. eryngii*), más kivonatok egyes koncentrációkban már teljesen hatástalannak bizonyultak (*P. citrinopileatus*). A koncentrációk alapján, a 7,5 mg/ml koncentrációig három kivonat (*C. cylindracea*, *P. eryngii* és *P. ostreatus*) is hasonló hatást mutatott, mint a kontrollként alkalmazott neomicin antibiotikum. Azonban arra már nem derült fény, hogy a hatás baktericid vagy bakteriosztatikus volt-e. A citromlaska kivonatának bakteriosztatikus hatása volt, azonban az alkalmazott legnagyobb koncentráció esetében is képes volt valamelyest növekedni a baktérium.

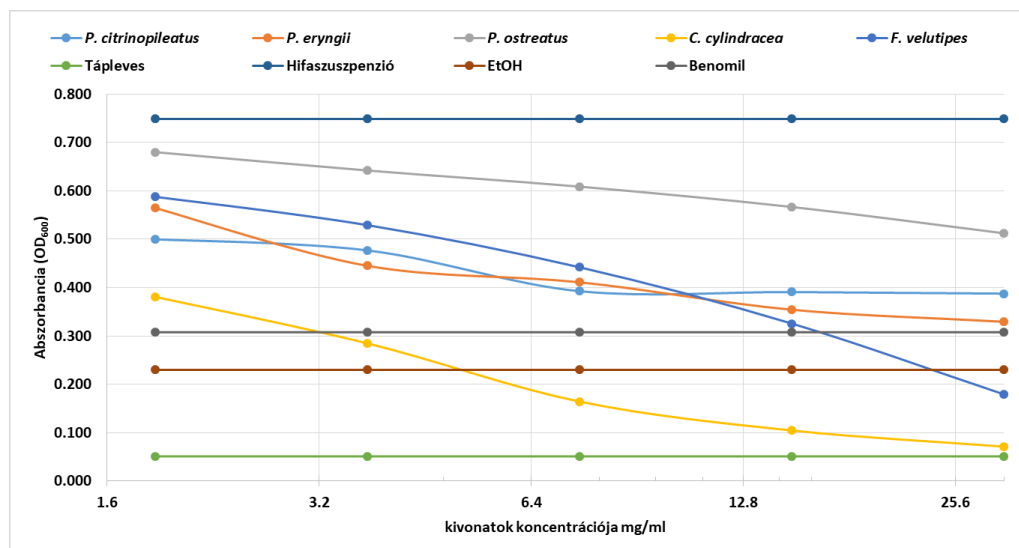
A mikroszkópikus gombák esetében is vizsgáltuk a gombakivonatok gátló hatását, a különböző gombatörzsek közül a *Botrytis cinerea* (**18. ábra**) és a *Bipolaris sorokiniana* (**19. ábra**) gombákkal kapott eredményeket mutatjuk be.



18. ábra – A vizsgált gombakivonatok *Botrytis cinerea* (*Bc*) kórokozóra gyakorolt hatása

Az *in vitro* körülmények között vizsgált *Botrytis cinerea* érzékenynek bizonyult a gombakivonatokkal szemben, mivel a kivonatok még alacsony koncentrációban is gátolták a gomba növekedését. A leghatékonyabban az ördögszekér laskagomba, míg legkevésbé a déli tőkegomba kivonata (a vizsgált legkisebb koncentrációban) gátolta a *Botrytis* növekedését.

A másik patogén gombatörzsszel (*Bipolaris sorokiniana* – *Bso*) végzett kísérleteink eredményeit a **19. ábra** szemlélteti. Pozitív kontrollként itt is benomilfungicidet alkalmaztunk. Azonban a kísérlet előtt nem tájékozódunk megfelelően, mivel a benomil nem alkalmas a *B. sorokiniana* gátlására, amit az ábrán látható elégtelen gátlás is jelez.



19. ábra – A vizsgált gombakivonatok *Bipolaris sorokiniana* (Bso) kórokozóra gyakorolt hatása

A kivonatok közül egyedül a déli tőkegomba kivonata volt képes gátolni a *Bso* növekedését (a legnagyobb alkalmazott koncentrációban), míg a többi kivonat ugyan valamennyire képes volt lassítani a gomba növekedését, azonban azt megakadályozni nem tudta. A **19. ábrán** az is látszik, hogy az EtOH is gátolta a gomba növekedését, mivel a kontrollhoz képest 2,5x kisebb mértékű abszorbanciát mértünk. Más patogén gombatörzseket is bevontunk kísérleteinkbe, úgymint a *Phytophthora nicotianae* és a *Fusarium avenaceum*, ám ezen gombák ellen nem mutattak számottevő hatást a különböző kivonatok, így ezen vizsgálatok eredményei nem kerültek bele a dolgozatba. A kísérletek során mért MIC értékeket a **2. táblázatba** gyűjtöttük össze.

2. táblázat – A gombakivonatok és a vizsgálatok során alkalmazott antimikrobiális szerek mért MIC értékei

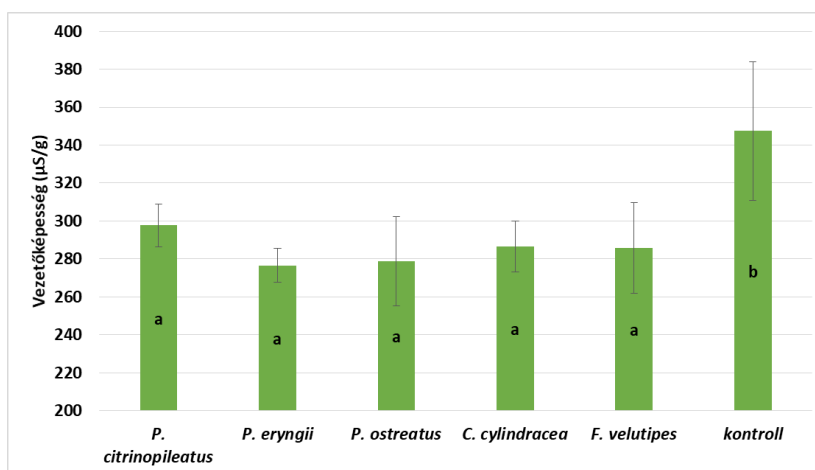
	MIC-értékek (µg/ml)			
	<i>R. solanacearum</i>	<i>X. campestris</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	<i>B. sorokiniana</i>	<i>B. cinerea</i>
<i>P. citrinopileatus</i>	4,5	4,5	-	0,28
<i>P. eryngii</i>	0,6	4,5	-	0,28
<i>P. ostreatus</i>	0,6	4,5	-	0,28
<i>C. cylindracea</i>	1,2	4,5	4,5	0,28
<i>F. velutipes</i>	-	-	-	-
Neomycin	-	0,07	-	-
Benomyl	-	-	-	0,09

A MIC-értékek alapján a gombakivonatok képesek gátolni a különböző növénypatogén ágensek növekedését, azonban az alkalmazott antimikrobiális szerekhez képest jóval

nagyobb mennyiséget (8-75x) kell alkalmazni a kívánt hatás érdekében. Azonban azt fontos megjegyezni, hogy a vizsgált kivonatok összetett mártixú oldatok. Ez annyit jelent, hogy többféle komponenst tartalmaznak változó arányokban. A jövőben tehát a legfontosabb feladat, hogy az egyes hatásos vegyületeket meghatározzuk és izoláljuk. Az izolált komponensek már lehet, hogy sokkal kisebb mennyiségben is képesek lesznek gátolni a különböző patogéneket. Azonban az sem zárható ki, hogy a különböző komponensek szinergista hatása okozza a gátlást. Ennek megállapítására tehát további vizsgálatok és projektek szükségesek, de azt már most meg lehet állapítani, hogy a gomba kivonatok alkalmazása – biopeszticidként – új lehetőség lehet a növényvédelemben.

4.4. A kivonatok antibakteriális hatása *in planta* körülmények között

A kivonatok antibakteriális hatását *in planta* körülmények között is teszteltük, mivel így már a kivonatok hatását egy növény-patogén rendszerben is vizsgálhatjuk. A kísérletünket egy dohánypatogén baktériummal, a *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* H10-es törzssével végeztük, amely a dohánynövényeken súlyos hervadásos tüneteket okoz, ezáltal pedig gazdasági károkat is eredményezhet. A kísérlet során a vírus kísérleteknél is említett elektromos vezetőképesség mérést alkalmaztuk. A vezetőképességi mérés eredményeit ($N=30$) a **20. ábrán** foglaltuk össze. Az ábrán a kivonatokkal való kezelések adatainak átlagát, szórását és standard hibáját szemlélteti.



20. ábra – A kivonatok hatása a *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* fertőzésre *in planta* körülmények között, a különböző betűk a szignifikáns különbséget mutatják ($p < 0,05$)

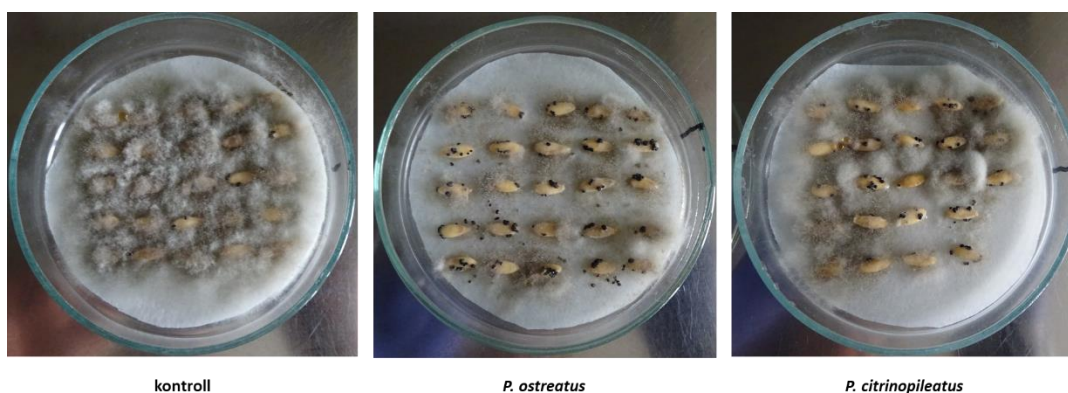
A mintákból végzett visszaizolálás során kontamináció lépett fel, így az ebből származó eredményeket nem tudtuk összevetni a vezetőképesség mérési eredményeivel. A konduktivitás mérések adatai alapján azonban megállapítható, hogy az oldószerrel kezelt

kontroll levelek, nagyobb mértékben sérültek, mint a gombakivonat kezelést kapó levelek. Az egészséges levelek vezetőképességi értéke $28,74 \pm 1,2 \mu\text{S/g}$ volt. Ehhez képest a fertőzési kísérlet során, mindegyik gombakivonattal kezelt és később baktériummal fertőzött levél sérült, azonban különböző mértékben. Az adatok varianciaanalízise alapján kimutatható volt a szignifikáns különbség a csoportok között (p-érték: 0,000263). Ezt követően Tukey *post-hoc* teszt segítségével megállapítottuk, mely kezelések különböztek szignifikánsan. A teszt alapján a különböző gombakivonattal végzett kezelések egymástól nem különböznek, azonban a kontrolltól mindegyik kezelés szignifikánsan különbözött.

4.5. A csávázás hatékonysága

A kórokozók vetőmaggal való terjedése régóta ismert probléma, mely súlyos termésveszteségeket eredményez. A kórokozók nagymértékben csökkentik a magok csírázóképeségét. Ennek következményeként kialakuló heterogén kelés a későbbiekben megnövelheti a növényállomány kórokozóknak való kitettségét. A fertőzések megelőzésére kontakt hatóanyagokat tartalmazó növényvédelmi szereket alkalmaznak a gyakorlatban. Kísérletünk során a gombakivonataink hatásait csávázással demonstráltuk. A csávázási kísérletekkel kapcsolatban limitált szakirodalom és saját tapasztalat állt rendelkezésre.

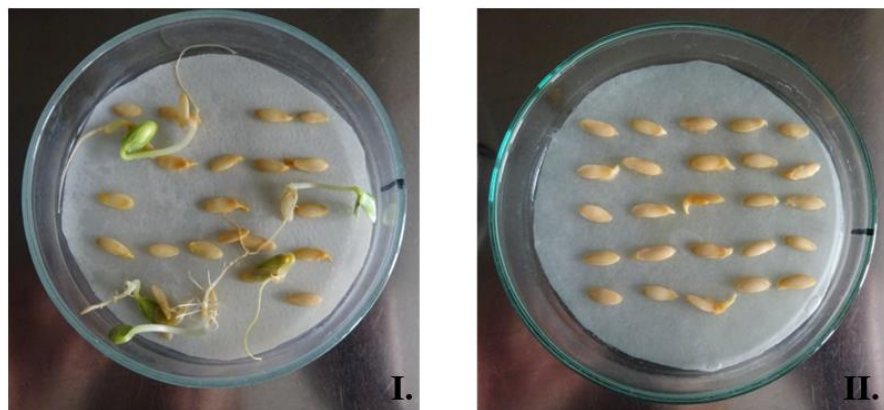
A módszer kidolgozását követően eredményeink azt mutatták, hogy az egyes kivonatok visszafogták a magok csírázási erélyét, így a kezelt magok lassabban kezdtek csírázni, illetve növekedésük sokkal vontatottabb volt. Ellentétben az *in vitro* kísérletben tapasztalt gátlással, a kivonatok a *Botrytis cinerea* ellen ilyen körülmények között hatástalannak bizonyultak. A használt uborkamagok növekedése nem indult meg, azonban a gomba légmicéliumok mennyiségében látható volt a különbség (21. ábra).



21. ábra – A *B. cinerea*-val fertőzött uborkamagok a kísérlet 5. napján, a kontroll és két laskagombakivonattal kezelt magok esetében (Fotó: Vámosi, 2022)

A kontrollhoz képest kisebb mértékben volt képes átszőni a kezelt magokat a patogén gomba. Érdekesség továbbá, hogy a *B. cinerea* szkleróciumokat (megkeményedett micélium) képzett a kezelt magokon, amely a kedvezőtlen környezeti feltételek esetén segíti elő a túlélést egyes gombafajoknál. Tehát a kivonatok a magokat ugyan ebben a kísérleti elrendezésben nem voltak képesek megvédeni, ugyanakkor a patogén gomba védekező mechanizmusait aktiválták.

A *Phytophthora nicotianae* törzs fertőzése folyamán a csávázatlan magok, azaz a kontroll elkezdtek csírázni, de megálltak a fejlődésben, míg kivonatokkal csávázott magok kicsíráztak és folyamatosan fejlődtek tovább (22.ábra).



22. ábra – A *Phytophthora nicotianae* fertőzött magok csíráztatása 4. napján (I. – *Pleurotus ostreatus* kivonat; II. – pozitív kontroll) (Fotó: Vámosi, 2022)

5. KONKLÚZIÓK, JAVASLATOK

Álláspontom szerint fontos, hogy minél környezettudatosabbak legyünk az élelmiszertermelésünk során, melyhez a szelektív növényvédelmi szerek ma már elengedhetetlen anyagok, s ennek okán választottam diplomadolgozatom témájául különböző bazídiumos gombák hatásának vizsgálatát növény patogén törzsekkel szemben. A vizsgálatink kiterjedtek vírus, baktérium és gomba kórokozók egyes törzseivel szembeni védekezésre, melyek során különböző *in planta* kísérletben bizonyítottuk, hogy alkalmasak a gombakivonatok növényvédelmi felhasználásra. Az eddigi eredmények szerint főként antivirális és egyes bakteriális fertőzések esetén lehetne alkalmazni őket.

A különböző rendszertani osztályokba tartozó biopeszticidek számos esetben bizonyították hatékonyságukat a kártevők és kórokozók elleni védekezésben. A növényvédelmi alkalmazásuk remek lehetőség, hogy csökkentjük a szintetikus peszticidek használatát és mérsékeljük a gazdák kiadásait, valamint a peszticidhasználat következményeképpen csökkentjük a környezetben és az élelmiszerekben esetlegesen felhalmozódó növényvédőszer maradványokat. A biopeszticidek hatékonyságát számos előnyös tulajdonságuknak köszönhetik, mint például a gyors biológiai lebomlási idejüknek, aminek következtében általában az egyes kémiai anyagokat csak nagyon kis mennyiségben szükséges alkalmazni, s ez által a velük történő kezelések során nem lép fel utóhatás.

Az elmúlt évtizedekben jelentősen bővültek a bazídiumos gombákkal kapcsolatos ismereteink, mindemellett számos új fajt írtak le és jellemeztek. Jelenleg a természet nyújtotta egyik legnagyobb kiaknázatlan lehetőség a makrogombafajok és a bennük megtalálható számos olyan vegyület, melyeket más élőlények nem képesek előállítani. Ezen vegyületek bioaktív tulajdonságaik (antioxidáns, antivirális, antibakteriális, stb.) miatt a mezőgazdaságban és más iparágakban is jól hasznosíthatóak lennének (Hibbett, 2006). A biopeszticidként való alkalmazásuk jelenthetik a megoldást a jövőbeli növényvédelmi problémákra, amelyet ma már számos agrárpolitikai keretterv támogat, mint például a most induló Agrár-ökológiai Program (AÖP). Jelen dolgozatban bizonyítottuk, hogy e vegyületek biztonságosan alkalmazhatóak *in planta* körülmények között is. A jövőben tehát elképzelhető lenne nemcsak az integrált növényvédelemben való felhasználásuk, hanem öko- és konvencionális gazdálkodásokban is, ahogyan ez a strobilurin hatóanyaggal is történt (Feng et al., 2020).

A növényvédelemnek számos korlátozó tényezővel kell szembe néznie a jövőben, többek között az EU új szabályozási rendszerével, melynek értelmében korlátozni fogják számos peszticid használatát, sőt egyes peszticideket kivonnak a forgalomból. Ezek között számos vegyületet alkalmaztak a különböző gombás és bakteriális fertőzések kezelésére. Ezek leváltására nyújthatnak alternatívát a különböző természetes forrásokból származó vegyületek. A jelenlegi szabályozási környezetben azonban az új biopeszticidek bevezetése az engedélyeztetési folyamatoknál rendszerint megakad, illetve több évbe telik mire a gazdálkodók a gyakorlatban is alkalmazhatják.

Kutatásainkat megelőzően már korábban folytattak hasonló vizsgálatokat az általunk is használt gombakivonatokkal, mely során kimutatták az egyes laskagomba fajok, mint például a *Pleurotus ostreatus* és a *Pleurotus citrinopileatus* TMV elleni gátló hatásait. Xie Lian-hui (2009) szintén TMV vírussal fertőzött dohánynövények levelein megjelenő tünetek megfigyelésével bizonyította a *Pleurotus citrinopileatus* vírus gátló hatását. A *Pleurotus citrinopileatus* gombafajjal 50%-os gátlási eredmény ért el ezzel szemben a diplomadolgozat vizsgálataiban átlagosan 20 %-os eltérést tapasztaltunk. Ám nemcsak vírus, de baktériumtörzsek gátlására is számos szakirodalmi adat állt rendelkezésünkre, mely során bizonyították a gombakivonatok hatásait és segítették munkánkat. Nowacka és munkatársai (2015) vizsgálták egyes gombafajok kivonataink antimikrobiális potenciálját minimális gátló koncentráció meghatározásával, mely során 0,156- 5 µg/ml közötti értékeket kaptak ám ezzel szemben saját kiértékelésünkönél 0,28-4,5 µg/ml közötti értékeket kaptunk. Mindezt ezt összevetve elmondható, hogy az egyes gombakivonatok és a bennünk lévő hatóanyagok valószínűsíthetően rendelkeznek növényvédelmi hatásokkal. (Li-ping et al., 2009; Na et al., 2009; Nowacka et al., 2015; Ren et al., 2014).

A csávázási kísérletek összességében nem hozták a remélt eredményeket. A jelenlegi adataink alapján a kivonatok csávázószerként való alkalmazhatósága még kérdéses, melyeket valószínűsíthetően a vizsgálatok módszertani hibáinak tudhatunk be. A csávázási kísérletek újratervezésének átgondolására és a csíranövények paramétereinek (gyököcske/rügyecske hossz, tömeg, stb.) mélyrehatóbb vizsgálatára lenne szükség a pontosabb eredmények eléréséhez. Az agrárkutatás szempontjából célszerű lehet akár a nem ehető gombafajok bevonása is a különböző kísérletekbe. A korábban leírtak fényében a biopeszticidek fejlesztésének prioritást kell élveznie, melynek alapját a kutatóintézetek és növényvédő szerggyártó cégek szorosabb együttműködése képezheti. Az iparágnak az új

biológiai növényvédő szerek gyártása és fejlesztésének sikere érdekében viszont a legnagyobb figyelmet a biopeszticidek piaci versenyképességének növelésére kell fordítani.

A jövőben javasolnám a diplomadolgozatban felhasznált gombakivonatokkal történő vírus szervezetek elleni kísérletek további folytatását, annak érdekében, hogy a gombakivonatokban lévő hatóanyagok és hatásmechanizmusaik pontos meghatározásra kerüljenek. A jövőbeli vizsgálatok többszöri megismétlésére lenne szükséges, mely által minél több adat állna rendelkezésül a kivonatok hatékonyságának alátámasztására. Továbbá a kutatásban nem szereplő más patogén törzsek ellen is vizsgálni kellene a kivonatok hatásspektrumát leginkább *in planta* körülmények között.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A mezőgazdaság ezen belül is a növénytermesztés világszerte fontos ágazat, mely biztosítja a mindennapi életünkhöz szükséges termékeket, alapanyagokat. Az egyik fő feladata az élelmiszerbiztonságazért, hogy megfelelő minőségű és mennyiségű élelmiszer kerüljön asztalunkra. Ennek megvalósítása a növényvédelem számára nem könnyű feladat, mivel a növénytermesztésben számos kór- és károkozóval kell megküzdeni. A konvencionális növényvédelem egyik alapját a növényvédő szerek adják, melyek használata hosszútávon környezetvédelmi és humán-egészségügyi kockázatokat is magában rejthet. Ezen kívül a növénytermesztés jövőbeni biztonságosságát és kiszámíthatóságát egyre jobban veszélyezteti a kórokozókban kialakuló növényvédő szerek elleni rezisztencia, a klímaváltozás, a munkaerőhiány és a hatóanyagok egyre szigorúbb törvényi korlátozása.

A mezőgazdaság hatékonyságának zökkenőmentes működése érdekében számos új és fenntartható növényvédelmi megoldást kell kifejleszteni. Az egyik ilyen megoldás a különböző biopeszticidek alkalmazása, melyek biológiai eredetű hatóanyagokon alapú fenntartható növényvédelmet biztosítanak a mezőgazdaság számára. A természet számos biopeszticid forrást kínál nekünk, mint például a bazídiumos nagygombákat, melyek különböző bioaktív vegyületeket termelnek.

Ennek következtében a diplomadolgozatom fő célkitűzése az volt, hogy öt bazídiumos nagygomba kivonatainak a hatásosságát felmérjük *in vitro* és *in planta* körülmények között különböző növénypatogénekkal szemben. A kórokozókkal történt hatékonysági kísérletek elkezdése előtt előkísérletekben megvizsgáltuk a gombakivonatok esetleges citotoxikus hatását növényekre és vetőmagokra. Megállapítottuk, hogy a növények és a vetőmagok sem érzékenyek a gombakivonatokra és a kivonatokban található vegyületekre.

A TMV kísérletek során, a léziószámok között szignifikáns eltérést igazoltunk a gombakivonatokkal kezelt és a kezeletlen levélrészek között (átlagosan 20 %-os eltérést tapasztaltunk). Továbbá a kezelt minták vezetőképesség mérési eredményei is szignifikánsan eltértek a kezeletlen kontrolltól. A gombakivonatokat *in vitro* körülmények között teszteltük különböző fitopatogén baktérium- és gombatörzsek ellen. A *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* baktérium szaporodását mindegyik kivonat, míg a *Ralstonia solanacearum* növekedését jelentős mértékben csak a *P. ostreatus* és a *P. eryngii* gátolta. Egyes gombakivonatok esetében is tapasztalhattunk gátlóhatást a *Botrytis cinerea* és a *Bipolaris sorokiniana* gomba patogéntörzsek ellen.

A kivonatok antibakteriális hatását *in planta* körülmények között is vizsgáltuk a *P. syringae* pv. *tabaci* felhasználásával. A vezetőképesség mérés eredményei alapján, a fertőzés súlyosságát szignifikánsan képesek mérsékelni a gombakivonatok.

A csávázási kísérletek során a csírázási erélyt visszafogták a kivonatok, ezáltal a vetőmagok növekedése vontatottabb volt. A kivonatok ugyan gátolták a *B. cinerea* gombatörzs növekedését, azonban a csírázás nem indult el. A *Phytophthora nicotianae* törzs esetében a kontroll magok megrekedtek a fejlődésben, miközben a kezelt magok képesek voltak folyamatosan tovább fejlődni.

Összességében elmondható, hogy a diplomadolgozatomban elvégzett kísérletek eredményei alapján fontos információkat tudtunk meg a felhasznált gombafajokból készült kivonatok növényvédelmi hatásairól. A vizsgálatok folyamán kidolgozott módszertani eszközök jövőbeli finomítása és a most kapott eredményeink jó alapot szolgáltatnak további kutatások számára.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani belső és külső konzulenseimnek Dr. Körösi Katalin Orsolyának, Dr. Krüzselyi Dánielnek, Dr. Móricz Ágnesnek és Dr. Bozsó Zoltánnak segítőkész munkájukért és értékes tanácsaikért, melyeknek köszönhetően sikeresen vettem kutatómunkám akadályait. Továbbá szeretném megköszönni az Agrártudományi Kutatóközpont Növényvédelmi Intézet összes munkatársának a sok segítséget és háttérmunkát. A kutatás megvalósítását a NKFI PD-134467 számú pályázat támogatta. Végezetül, szeretném megköszönni a szüleimnek és barátaimnak a sok támogatást és biztatást.

IRODALOMJEGYZÉK

- Agrárminisztérium, 2016. Európai Unió GMO-szabályozás [WWW Document]. gmo.kormany.hu. URL <https://gmo.kormany.hu/az-europai-unios-gmo-szabalyozas-ismertetese>
- Ansari, I., El-Kady, M.M., Arora, C., Sundararajan, M., Maiti, D., Khan, A., 2021. A review on the fatal impact of pesticide toxicity on environment and human health, in: Global Climate Change. Elsevier, pp. 361–391. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-822928-6.00017-4>
- Bartlett, D.W., Clough, J.M., Godwin, J.R., Hall, A.A., Hamer, M., Parr-Dobrzanski, B., 2002. The strobilurin fungicides. Pest Manag. Sci. 58, 649–662. <https://doi.org/10.1002/ps.520>
- Basnet, P., Dhital, R., Rakshit, A., 2021. Biopesticides: a genetics, genomics, and molecular biology perspective. Biopestic. Vol. 2 Adv. Bio-inoculants 107–116. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823355-9.00019-5>
- Ben Amira, M., Lopez, D., Triki Mohamed, A., Khouaja, A., Chaar, H., Fumanal, B., Gousset-Dupont, A., Bonhomme, L., Label, P., Goupil, P., Ribeiro, S., Pujade-Renaud, V., Julien, J.L., Auguin, D., Venisse, J.S., 2017. Beneficial effect of *Trichoderma harzianum* strain Ths97 in biocontrolling *Fusarium solani* causal agent of root rot disease in olive trees. Biol. Control 110, 70–78. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.04.008>
- Bora, P., Bora, L.C., 2021. Microbial antagonists and botanicals mediated disease management in tea, *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze: An overview. Crop Prot. 148, 105711. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105711>
- Cabrera, L.C., Pastor, P.M., 2021. The 2019 European Union report on pesticide residues in food. EFSA J. 19. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6491>
- Cech, R.M., Jovanovic, S., Kegley, S., Hertoge, K., Leisch, F., Zaller, J.G., 2022. Reducing overall herbicide use may reduce risks to humans but increase toxic loads to honeybees, earthworms and birds. Environ. Sci. Eur. 34, 1–20. <https://doi.org/10.1186/s12302-022-00622-2>
- Coelho, P.S., Valério, L., Monteiro, A.A., 2009. Leaf position, leaf age and plant age affect the expression of downy mildew resistance in *Brassica oleracea*. Eur. J. Plant Pathol. 125, 179–188. <https://doi.org/10.1007/s10658-009-9469-4>
- Csorbainé Gógán, A., Pék, Z., 2011. Gombatermesztés, Oktatási s. ed. MATE, Gödöllő.
- Európai Tanács, 2009. Az Európai Parlament és a Tanács 2009/128/EK irányelve (2009. október 21.) a peszticidek fenntartható használatának elérését célzó közösségi fellépés kereteinek meghatározásáról. Európai Unió.
- Fahad, S., Saud, S., Akhter, A., Bajwa, A.A., Hassan, S., Battaglia, M., Adnan, M., Wahid, F., Datta, R., Babur, E., Danish, S., Zarei, T., Irshad, I., 2021. Bio-based integrated pest management in rice: An agro-ecosystems friendly approach for agricultural sustainability. J. Saudi Soc. Agric. Sci. 20, 94–102.

<https://doi.org/10.1016/j.jssas.2020.12.004>

- FAOSTAT, 2018. Pesticides Use Data [WWW Document]. Food Agric. Organ. United Nations. URL <https://www.fao.org/faostat/en/#data/RP> (accessed 10.4.22).
- Farber, D.H., Mundt, C.C., 2017. Effect of plant age and leaf position on susceptibility to wheat stripe rust. *Phytopathology* 107, 412–417. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-16-0284-R>
- Feng, Y., Huang, Y., Zhan, H., Bhatt, P., Chen, S., 2020. An Overview of Strobilurin Fungicide Degradation: Current Status and Future Perspective. *Front. Microbiol.* 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00389>
- Ferraro, V., Venturella, G., Pecoraro, L., Gao, W., Gargano, M.L., 2022. Cultivated mushrooms: importance of a multipurpose crop, with special focus on Italian fungiculture. *Plant Biosyst.* 156, 130–142. <https://doi.org/10.1080/11263504.2020.1837283>
- Fielke, S., Taylor, B., Jakku, E., 2020. Digitalisation of agricultural knowledge and advice networks: A state-of-the-art review. *Agric. Syst.* 180, 102763. <https://doi.org/10.1016/j.agry.2019.102763>
- Földi, A., 2012. Gombák az egészség szolgálatában 2, 193–194.
- Fulton, M.H., Key, P.B., DeLorenzo, M.E., 2013. Insecticide Toxicity in Fish. *Fish Physiol.* 33, 309–368. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398254-4.00006-6>
- Giuliano, D., Cardarelli, E., Bogliani, G., 2018. Grass management intensity affects butterfly and orthopteran diversity on rice field banks. *Agric. Ecosyst. Environ.* 267, 147–155. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.08.019>
- Hawksworth, D.L., Lücking, R., 2017. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiol. Spectr.* 5. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.funk-0052-2016>
- He, M.Q., Zhao, R.L., 2021. Outline of basidiomycota. *Encycl. Mycol.* 310–319. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819990-9.00065-2>
- Heydari, A., Pessarakli, M., 2010. A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. *J. Biol. Sci.* 10, 273–290. <https://doi.org/10.3923/jbs.2010.273.290>
- Hibbett, D.S., 2006. A phylogenetic overview of the Agaricomycotina. *Mycologia* 98, 917–925. <https://doi.org/10.3852/mycologia.98.6.917>
- Holtappels, D., Fortuna, K., Lavigne, R., Wagemans, J., 2021. The future of phage biocontrol in integrated plant protection for sustainable crop production. *Curr. Opin. Biotechnol.* 68, 60–71. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2020.08.016>
- IPPC Secretariat, 2021. Scientific review of the impact of climate change on plant pests, Scientific review of the impact of climate change on plant pests. FAO on behalf of the IPPC Secretariat, Rome. <https://doi.org/10.4060/cb4769en>

- Jeger, M., Beresford, R., Bock, C., Brown, N., Fox, A., Newton, A., Vicent, A., Xu, X., Yuen, J., 2021. Global challenges facing plant pathology: multidisciplinary approaches to meet the food security and environmental challenges in the mid-twenty-first century. *CABI Agric. Biosci.* 2, 20. <https://doi.org/10.1186/s43170-021-00042-x>
- Kant Raut, J., 2019. Current Status, Challenges and Prospects of Mushroom Industry in Nepal. *Int. J. Agric. Econ.* 4, 154. <https://doi.org/10.11648/j.ijae.20190404.13>
- KEMI, 2020. Guidance on national chemicals control: Hazard and and risk reduction of pesticides.
- Kumar, J., Ramlal, A., Mallick, D., Mishra, V., 2021. An overview of some biopesticides and their importance in plant protection for commercial acceptance. *Plants* 10, 1185. <https://doi.org/10.3390/plants10061185>
- Kumar, S., Singh, A., 2015. Biopesticides: Present Status and the Future Prospects. *J. Fertil. Pestic.* 06. <https://doi.org/10.4172/2471-2728.1000e129>
- Lee, Y.L., Huang, G.W., Liang, Z.C., Mau, J.L., 2007. Antioxidant properties of three extracts from *Pleurotus citrinopileatus*. *Lwt* 40, 823–833. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.04.002>
- Lengai, G.M.W., Muthomi, J.W., 2018. Biopesticides and Their Role in Sustainable Agricultural Production. *J. Biosci. Med.* 06, 7–41. <https://doi.org/10.4236/jbm.2018.66002>
- Li-ping, W.U., Yu-sheng, C.A.O., Zu-jian, W.U., Qi-ying, L.I.N., Lian-hui, X.I.E., 2009. YP3: a Novel Plant Virus Inhibitory Protein from Mushroom *Pleurotus citrinopileatus*. *Nat. Prod. Res. Dev.* 21, 371–376.
- MDN Web Docs, 2022. Math.random() - JavaScript | MDN [WWW Document]. URL https://developer.mozilla.org/en-US/docs/Web/JavaScript/Reference/Global_Objects/Math/random (accessed 4.25.22).
- Meshram, S., Bisht, S., Gogoi, R., 2021. Current development, application and constraints of biopesticides in plant disease management. *Biopestic. Vol. 2 Adv. Bio-inoculants* 207–224. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823355-9.00004-3>
- Mosunova, O., Navarro-Muñoz, J.C., Collemare, J., 2021. The biosynthesis of fungal secondary metabolites: From fundamentals to biotechnological applications. *Encycl. Mycol.* 458–476. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.21072-8>
- Na, L., XingHong, L., Ying, Z., LiYe, Z., Hong, Y., 2009. The anti-TMV activities of eight varieties of *Pleurotus ostreatus*. *Chinese J. Biol. Control* 25, 267–270.
- Nébih, 2018. Tirám (TMTD) hatóanyagot tartalmazó készítmények visszavonása [WWW Document]. URL <https://portal.nebih.gov.hu/-/tiram-tmtd-hatoanyagot-tartalmazo-keszitmenyek-visszavonasa>
- Nowacka, N., Nowak, R., Drozd, M., Olech, M., Los, R., Malm, A., 2015. Antibacterial, antiradical potential and phenolic compounds of thirty-one polish mushrooms. *PLoS One* 10, e0140355. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140355>
- Prasad Thakur, M., K. Singh, H., Shekhar Shukla, C., 2022. Postharvest Processing, Value Addition and

- Marketing of Mushrooms, in: *Postharvest Technology - Recent Advances, New Perspectives and Applications*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.101168>
- Rahmann, G., Ardakani, M.R., Bärberi, P., Boehm, H., Canali, S., Chander, M., David, W., Dengel, L., Erisman, J.W., Galvis-Martinez, A.C., Hamm, U., Kahl, J., Köpke, U., Kühne, S., Lee, S.B., Løes, A.K., Moos, J.H., Neuhofer, D., Nuutila, J.T., Olowe, V., Oppermann, R., Rembiałkowska, E., Riddle, J., Rasmussen, I.A., Shade, J., Sohn, S.M., Tadesse, M., Tashi, S., Thatcher, A., Uddin, N., von Fragstein und Niemsdorff, P., Wibe, A., Wivstad, M., Wenliang, W., Zanolli, R., 2017. Organic Agriculture 3.0 is innovation with research. *Org. Agric.* 7, 169–197. <https://doi.org/10.1007/s13165-016-0171-5>
- Ren, L., Hemar, Y., Perera, C.O., Lewis, G., Krissansen, G.W., Buchanan, P.K., 2014. Antibacterial and antioxidant activities of aqueous extracts of eight edible mushrooms. *Bioact. Carbohydrates Diet. Fibre* 3, 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.01.003>
- Sandargo, B., Chepkirui, C., Cheng, T., Chaverra-Muñoz, L., Thongbai, B., Stadler, M., Hüttel, S., 2019. Biological and chemical diversity go hand in hand: Basidiomycota as source of new pharmaceuticals and agrochemicals. *Biotechnol. Adv.* 37, 107344. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.01.011>
- Skendžić, S., Zovko, M., Živković, I.P., Lešić, V., Lemić, D., 2021. The Impact of Climate Change on Agricultural Insect Pests. *Insects* 2021, Vol. 12, Page 440 12, 440. <https://doi.org/10.3390/INSECTS12050440>
- Smith, H., Doyle, S., Murphy, R., 2015. Filamentous fungi as a source of natural antioxidants. *Food Chem.* 185, 389–397. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.134>
- Storck, V., Karpouzas, D.G., Martin-Laurent, F., 2017. Towards a better pesticide policy for the European Union. *Sci. Total Environ.* 575, 1027–1033. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.167>
- Szarvas, J., 2011. Törzs-összehasonlító vizsgálatok és gyakorlati fejlesztések az ördögszekér laskagomba [Pleurotus eryngii (DC.:Fr.) Quél.] termesztésében = Strain comparative examinations and practical developments in the King Oyster Mushroom [Pleurotus eryngii (DC.:Fr.)].
- Szőcs, G., 2016. Szexferomonok szerepe a lepkéknél, új kommunikációs csatornák feltárása és alkalmazásuk lehetőségei a környezetkímélő növényvédelemben. MTA ATK Növényvédelmi Intézet.
- TIBCO Software Inc., 2017. Statistica (data analysis software system) version 13.3.
- Usharani, K., Dhananjay, N., Manjunatha, R., 2019. Neem as an organic plant protectant in agriculture. *J. Pharmacogn. Phytochem.* 8, 4176–4184.
- Vajna, T., 2021. Újra kitörhet a glifozátháború Európában [WWW Document]. Qubit. URL <https://qubit.hu/2021/07/20/ujra-kitorhet-a-glifozathaboru-europaban> (accessed 3.21.22).
- van Lenteren, J.C., 2012. The state of commercial augmentative biological control: Plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl* 57, 1–20. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9395-1>
- Visker, M.H.P.W., Keizer, L.C.P., Budding, D.J., Van Loon, L.C., Colon, L.T., Struik, P.C., 2003. Leaf

position prevails over plant age and leaf age in reflecting resistance to late blight in potato. *Phytopathology* 93, 666–674. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.6.666>

Woese, C.R., Kandler, O., Wheelis, M.L., 1990. Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87, 4576–4579. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.12.4576>

Xu, J., 2016. Fungal DNA barcoding1. *Genome* 59, 913–932. <https://doi.org/10.1139/gen-2016-0046>

Zhao, C., Sun, H., Tong, X., Qi, Y., 2003. An antitumour lectin from the edible mushroom *Agrocybe aegerita*. *Biochem. J.* 374, 321–327. <https://doi.org/10.1042/BJ20030300>

Zhou, P., Zhao, Y., Li, J., Wu, G., Zhang, L., Liu, Q., Fan, S., Yang, X., Li, X., Wu, Y., 2012. Dietary exposure to persistent organochlorine pesticides in 2007 Chinese total diet study. *Environ. Int.* 42, 152–159. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.05.018>

Mellékletek

I. Melléklet – Az alkalmazott táptalajok

Élesztőkivonat-pepton-glükóz tápoldat/táptalaj (*yeast extract-peptone-glucose medium, YPD*) – 10 g/L élesztőkivonat, 20 g/L pepton, 20 g/L D-glükóz, táptalaj készítése esetén 20 g/L agar

LB-Miller tápoldat/táptalaj – tripton 10 g/L, NaCl 10 g/L, élesztő kivonat 5 g/L, táptalaj készítése esetén 15 g/L agar.

YDC tápoldat/táptalaj (*yeast dextrose carbonate agar*) – dextróz 20 g/L, élesztőkivonat 10 g/L, CaCO₃ 20 g/L, táptalaj készítése esetén 20 g/L agar

CPG tápoldat/táptalaj (*Casamino acid- Peptone-Glucose*) – kazaminosav (kazein hidrolizátum) 1 g/L, pepton 10g/L, szőlőcukor 5 g/L, táptalaj készítése esetén 17 g/L agar

Nutrient tápoldat/táptalaj – pepton 5 g/L, marha kivonat 1 g/L, élesztőkivonat 2 g/L, NaCl 5 g/L, táptalaj készítése esetén 15 g/L agar

King's B tápoldat/táptalaj pepton 20 g/L, K₂HPO₄ 1,5 g/L, MgSO₄ +H₂O 1,5 g/L, glicerin 10 ml/L, táptalaj készítése esetén 15 g/L agar

PDA táptalaj (burgonya dextróz agar) – 10 dkg szeletelt hámozott krumplit megfőztünk, a levéhez 3 g dextrózt és 5 g agart adtunk és desztillált vízzel 250 ml-ig hígítottuk, majd 30 percig kuktáztuk.

Sárgarépalé táptalaj – 300 ml zöldséglevet 4,5 g kalcium-karbonáttal összekevertünk, ötszörösére hígítottuk desztillált vízzel és 1,5%-os agar hozzáadása után kuktába 15 percig főztük

II. Melléklet – TMV kísérleti elrendezés

1 – *Pleurotus citrinopileatus*

2 – *Pleurotus eryngii*

3 – *Pleurotus ostreatus*

4 – *Cyclocybe cylindraceae*

5 – *Flammulina velutipes*

6 – kontroll

I.Kísérlet-2022.04.25			
Növény	Felső levél	Középső levél	Alsó levél
1	2	4	5
2	5	1	4
3	2	6	1
4	2	4	6
5	3	6	5
6	3	1	4
7	1	6	1
8	6	3	2
9	4	2	3
10	4	3	6
11	3	3	5
12	1	3	1
13	5	4	5
14	5	1	5
15	6	2	6
16	1	2	2
17	3	3	5
18	4	2	6
19	4	2	4
20	1	5	6

II.Kísérlet-2022.05.08			
Növény	Felső levél	Középső levél	Alsó levél
1	1	3	2
2	6	4	1
3	2	6	3
4	1	5	2
5	6	4	5
6	2	1	6
7	5	2	5
8	4	3	4
9	5	6	3
10	5	1	2
11	6	4	1
12	3	1	2
13	3	6	4
14	1	3	6
15	4	5	2
16	5	3	4
17	5	6	3
18	5	2	4
19	1	2	3
20	1	6	4

III. Melléklet – A *Pseudomonas syringae* pv. *nicotiana* kísérlet elrendezése

1 – *Pleurotus citrinopileatus*

2 – *Pleurotus eryngii*

3 – *Pleurotus ostreatus*

4 – *Cyclocybe cylindraceae*

5 – *Flammulina velutipes*

6 – kontroll

Kísérlet-2022.10.19			
Növény	Felső levél	Középső levél	Alsó levél
1	2	1	5
2	4	5	2
3	3	5	1
4	6	5	3
5	1	6	4
6	3	1	4
7	6	3	4
8	2	2	2
9	5	1	4
10	4	1	3
11	6	1	4
12	5	6	2
13	1	5	3
14	2	2	3
15	5	4	3
16	6	5	6
17	3	1	4
18	2	6	6

KONZULTÁCIÓS NYILATKOZAT

A Vámosi Beatrix (név) (hallgató Neptun azonosítója: G5PEI0) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a diplomadolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A diplomadolgozatot a záróvizsgán történő védeésre javaslom / nem javaslom.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem

Kelt: Gödöllő, 2023. 05. 01.



Belső konzulens

NYILATKOZAT

a diplomadolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Vámosi Beatrix
A Hallgató Neptun kódja: G5PEI0
A dolgozat címe: Bazídiumos nagygomba kivonatok, mint potenciális növényvéd szerek
A megjelenés éve: 2023
A konzulens tanszék neve: Integrált Növényvédelmi 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 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 könyvtári repozitori rendszerébe.

Kelt: 2023 év május hó 03 nap

Vámosi Beatrix
Hallgató aláírása