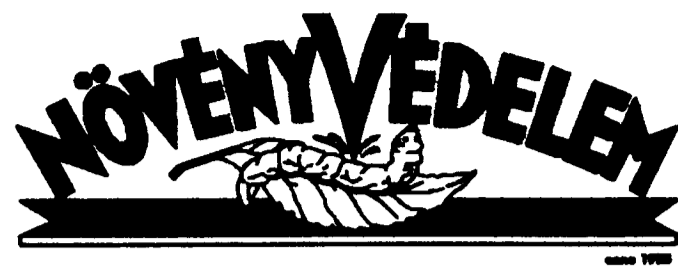


Pannon Egyetem  
Georgikon Mezőgazdaságtudományi Kar  
Keszthely  
Növényvédelmi Intézet



# XVII. Keszthelyi Növényvédelmi Fórum 2007.

kiadványa

**Keszthely, 2007. január 31 - február 2.**

# TRICHODERMA REESEI – BIOLÓGIAI VÉDEKEZÉSI LEHETŐSÉG A PHOMA FAJOK ELLEN

IRINYI LÁSZLÓ<sup>1</sup> – KÖVICS GYÖRGY JÁNOS<sup>1</sup> –  
EL-NAGGAR, MAGDY<sup>2</sup> – SÁNDOR ERZSÉBET<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem, Agrártudományi Centrum, Növényvédelmi Tanszék, Debrecen

<sup>1</sup>Kafr El-Sheikh University, Faculty of Agriculture, Agricultural Botany Department, Kafr El-Sheikh, Egypt

## Összefoglaló

Vizsgálatunk célja a *Trichoderma reesei* fonalas gomba antagonizmusának tanulmányozása volt *Phoma* fajokon. A *Trichoderma reesei* elsődleges alkalmazási területe az ipari enzimtermelés, de biokontroll organizmusként történő alkalmazhatóságát még nem vizsgálták *Coelomyces* gomba fajok ellen. Bizonyítékokat találtunk a faj közvetlen mikoparazitizmusára, valamint antibiotikum termeléssel okozott antibiózisára is *Phoma* fajok ellen.

## Bevezetés

A növénykórokozók elleni biológiai védekezés (biokontroll) a növényvédelemben vonzó alternatívája a kemikáliák használatának, melyek gyakran környezetszennyezési problémákkal járnak. Ráadásul egyre gyakrabban figyelhető meg a különböző fungicidekkel szemben rezisztens kórokozó gombatörzsek megjelenése is. Számos *Trichoderma* antagonistát tartalmazó biopeszticidet használnak a biológiai védekezésben, mivel hatékony parazitái sok gazdaságilag fontos növénypatogén gombának (pl. *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Pytium* spp., *Botrytis cinerea*). A biokontroll törzsek alkalmazásának hatékonyságát nem könnyű megjósolni, ezért egyelőre szerény versenytársai a különböző kemikáliáknak (Harman – Björkman, 1998; Hjeljord – Tronsmo, 1988).

A *Trichoderma* nemzetségbe tartozó fonalas gombákat több mint 70 éve tanulmányozzák. Előfordulnak minden égövön, a hideg égőtől a trópusokig (Domsch et al., 1980). Elsősorban talajlakó gombák, melyek szaprofiton szervezatként igen sok anyagot képesek szén-, illetve nitrogénforrásként felhasználni. A növénypatogén gombák elleni biológiai védekezés talán legígéretesebb lehetőségeinek számítanak (Kubicek et al., 2001). Széles körben használják őket, mivel szinte bármilyen típusú talajban megtalálhatók, gyorsan kolonizálják a szubsztrátot, és jelentősen képesek csökkenteni a növénypatogén gombák élettevékenységeit (Harman et al., 2004). A *Trichoderma* fajok mikoparazitizmusát és antibiotikum termelését elsőként Weindling írta le 1932-ben és 1934-ben. Napjainkban már kereskedelmi forgalomban is kaphatók különböző *Trichoderma* törzseket tartalmazó készítmények (pl. PlantShield HC, Trichodex, Soilguard 12G, Primastop), melyek elvileg lehetőséget adnak a fungicid hatású vegyszerek mellőzésére vagy csökkentett mértékű használatára (Hjeljord – Tronsmo, 1988).

A mikoparazita *Trichoderma* fajok a fitopatogén gombákat többlépcsős folyamat során pusztítják el. A mikoparazitizmusban szerepet játszanak a *Trichoderma* által termelt különböző antibiotikumok (Ghisalberti et al., 1991), valamint a sejtfalbontó enzimek:

<sup>1</sup> Munkáját a Debreceni Egyetemen végezte a Magyar Ösztöndíj Bizottság ösztöndíjasaként.

például a kitinázok és a cellulázok (Chet, 1987; Schirmböck et al., 1994), a közvetlen mikoparazitizmus, a tápanyagért és élettérért folytatott versengés (Chet, 1987). Leggyakrabban a különböző antagonista hatások együttese játszik szerepet a mikoparazitizmusban.

A mikoparazitizmus egy összetett folyamat, amely során a *Trichoderma* fajok a fitopatogén gombafajok micéliuma irányába növekednek, majd spirálisan körbetekerednek rajta, előfordul, hogy be is hatolnak a kórokozó hifáiba (Chet, 1987). A sejtfalbontó enzimek aktivitása általában a parazitizmus kései stádiumában figyelhető meg. Kísérleteinkben a *Trichoderma reesei* faj mikoparazitizmusát vizsgáltuk különböző *Phoma* fajokon.

A *Trichoderma reesei*-t eddig elsősorban az iparilag fontos enzimek termelése kapcsán vizsgálták, extracelluláris enzimtermelő tulajdonságaival összefüggésben. Alkalmazási területe főként az élelmiszer-, textil-, papír- és faipar területére koncentrálódik, ahol cellulázok előállítására használják őket. Biokontroll törzsként tudomásunk szerint ezt a fajt még nem vizsgálták *Coelomycetes* fajok ellen (Kubicek, C. P. személyes közlés). Eddigi vizsgálatok csak *Oomycota* fajok ellen bizonyították a faj antagonizmusát (Seidl et al., 2006).

*Phoma* fajokon a szakirodalomban egyedül a *Trichoderma harzianum* antagonizmusára találtunk utalást

([http://www.ibvf.cartuja.csic.es/Control\\_Biologico/Byologic\\_control.htm](http://www.ibvf.cartuja.csic.es/Control_Biologico/Byologic_control.htm)).

A *Phoma* genusba tartozó gombafajok fitopatogén, opportunistá parazita, más részük szaprofiton életmódot folytatnak. Értelemszerűen mezőgazdasági szempontból a fitopatogén, illetve az opportunistá (gyengültségi parazita) fajoknak van számottevő gazdasági jelentősége. Vizsgálatunkban két *Phoma* fajjal szemben in vitro vizsgáltuk a *Trichoderma reesei* antagonizmusát. A *Phoma pinodella* (L.K. Jones) Morgan-Jones & K. B. Burch a borsó világszerte elterjedt, jól ismert, és jelentős károkat előidéző kórokozója. Valójában a zöldborsón kívül számos egyéb növényről is izolálták már a kórokozót. A másik vizsgált faj a *Phoma herbarum*, amely szintén kozmopolita faj, és a legkülönbözőbb helyekről, illetve szubsztrátumokról izolálták.

## Anyag és módszer

A vizsgálatban a *Trichoderma reesei* TU-6 izolátuma, és a *Phoma pinodella* D/035, valamint a *Phoma herbarum* D/143 izolátuma szerepelt.

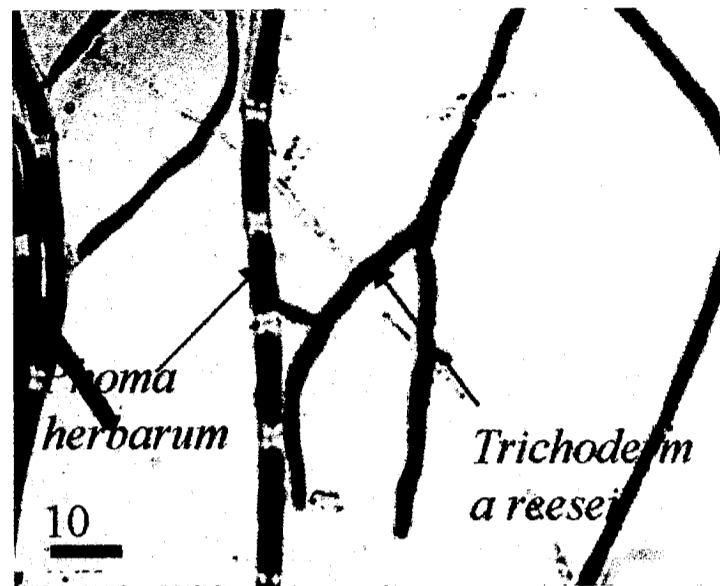
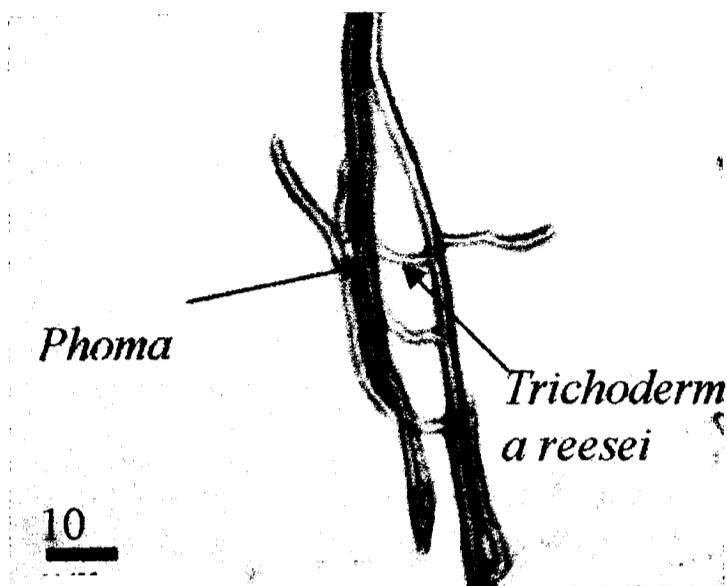
Az antagonizmus vizsgálatokat maláta (3%) táptalajon végeztük 9 cm átmérőjű Petri-csészékben. A *Phoma* és *Trichoderma* fajokat egymástól 5 cm-re oltottuk le 3 mm átmérőjű micélium-korongokkal. A mikroszkópi metszetek készítésének megkönnyítése céljából a táptalaj felületére helyezett steril celofánkorongokon tenyésztettük a gombákat. Mivel a két gombafaj növekedési rátája különböző, ezért a *Phoma* fajokat vittük fel elsőként, majd egy hét elteltével oltottuk velük szemben a *Trichoderma reesei* fajt. A leoltás utáni 4. napon a hifával borított celofánokból metszeteket készítettünk. Ezeket a két faj micéliuma éppen érintette egymást. A mikroszkópi preparátumokat Zeiss mikroszkóppal 200-szoros nagyításnál tanulmányoztuk. A fotókat Canon A520 digitális fényképezőgéppel készítettük 4-szeres optikai zoom mellett.

## Eredmények és megvitatásuk

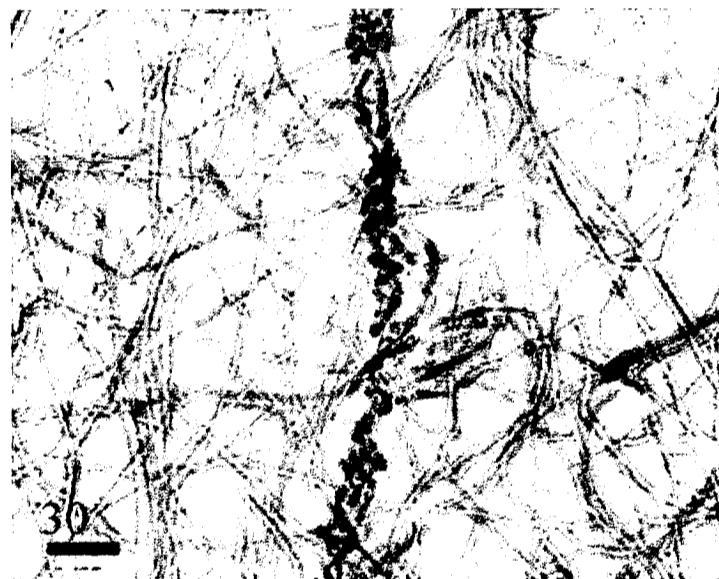
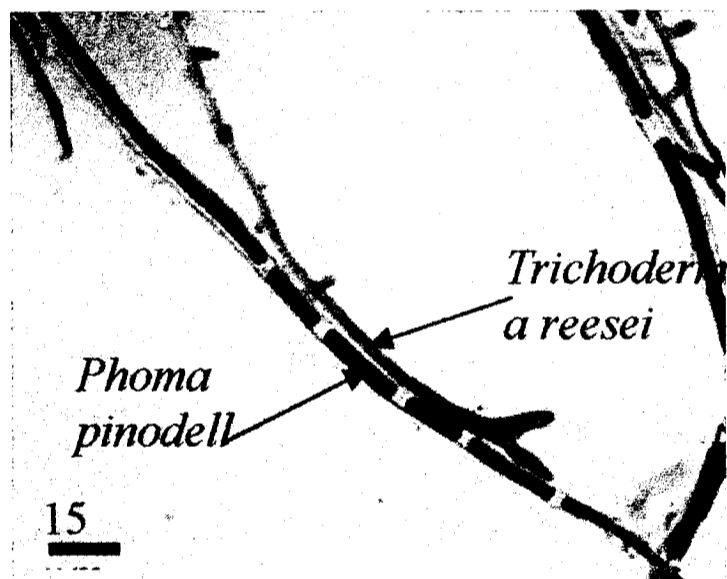
Az 1. és 2. ábrán jól megfigyelhető, hogy a *Trichoderma reesei* micéliuma szorosan a *Phoma* fajok micéliumához tapad. A kontaktus létrejöttét követően a gazda sejtfalát a

*T. reesei* enzimeivel bontja, behatolás azonban nem következik be, hanem hausztóriumyszerű képleteket fejleszt, amelyen keresztül különböző tápanyagokat von el a gazdasejtektől. A tápanyagfelvétel a két érintkező sejt között megy végbe a gazdasejt rovására. Ez felületi vagy exogén biotróf kapcsolatnak minősíthető.

A 3. ábrán a közvetlen mikoparazitizmus figyelhető meg, amikor is a *Trichoderma* fonalai spirálisan körbefonják az *Phoma* fonalakat.

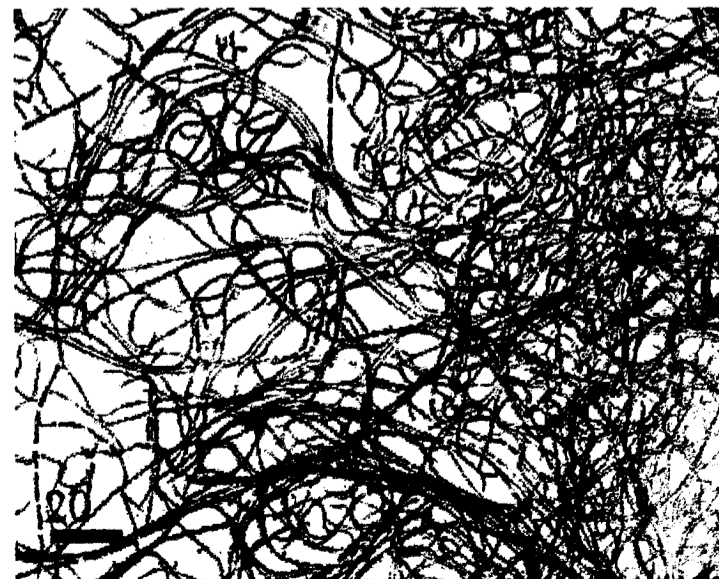


1. ábra: *Trichoderma reesei* fonala szorosan a *Phoma herbarum* micéliumára tapad és „szívóhifát” fejleszt



2. ábra: *Trichoderma reesei* fonala szorosan a *Phoma pinodella* micéliumára tapad és „szívóhifát” fejleszt

3. ábra: *Trichoderma reesei* micéliuma spirálisan körbetekeredik a *Phoma herbarum* fonalán



4. ábra: Antibiotikum hatása a *Phoma pinodella* micéliumának növekedésére

A 4. ábrán az antibiózis következménye látható. A *Trichoderma* fajok sokféle antimikrobiális anyagot termelnek, amelyek rendkívül változatos csoportokat alkotnak a kémiai szerkezet és a funkció szempontjából (Taylor, 1986). A 4. ábrán jól látható, hogy a *Phoma* fonalaknak számos elágazása van, illetve a fonalak jelentős mértékben görbültek és torzultak, ami egyértelmű bizonyítéka annak, hogy a közegben a mikoparazita által termelt antibiotikumok találhatóak, amelyek előidézik a fonalak rendellenes növekedését.

A vizsgálataink során bizonyítékokat találtunk arra, hogy a *Trichoderma reesei* faj hatásos antagonistája a *Phoma herbarum* és a *Phoma pinodella* fajoknak. Megfigyeltük mind a közvetlen mikoparazitizmust, mind pedig az antibiózis jelenségét.

## **TRICHODERMA REESEI AS A BIOCONTROL AGENT AGAINST PHOMA SPECIES**

LÁSZLÓ IRINYI<sup>1</sup> – GYÖRGY JÁNOS KÖVICS<sup>1</sup> –  
MAGDY EL-NAGGAR<sup>2</sup> – ERZSÉBET SÁNDOR<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Debrecen, Centre of Agricultural Sciences, Department of Plant Protection, Debrecen, Hungary

<sup>2</sup>Kafr El-Sheikh University, Faculty of Agriculture, Agricultural Botany Department, Kafr El-Sheikh, Egypt

In this study we have proved that *Trichoderma reesei* – mostly considered as an industrially important filamentous fungus – can also be used as a biocontrol agent against *Phoma pinodella* and *Phoma herbarum*. We have found evidence for the direct mycoparasitic activity as well as antibiosis.

### **Irodalomjegyzék**

- Chet, I. (1987): *Trichoderma* application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi. Wiley & Sons, New York; Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T.H. (1980): Compendium of soil fungi, Vol. 1. Academic Press, London; Ghisalberti E.L., Sivasithamparam K. (1991): Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. Soil Biol. Biochem. 23: 1011-1020.; Harman, G.E., Björkman, T. (1988): Potential and existing use of *Trichoderma* and *Gliocladium* for plant disease control and plant growth enhancement. pp. 229-266. In: Harman, G.E., Kubicek, C.P. (Eds.) *Trichoderma* and *Gliocladium*. Vol. 2. Enzymes, Biological Control and Applications. Taylor and Francis Ltd, London, UK; Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I., Lorito, M. (2004): *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nat. Rev. Microbiol. 2: 43-56.; Hjeljord, L., Tronsmo, A. (1988): *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. pp. 131-152. In: Harman, G.E., Kubicek, C.P. (Eds.) *Trichoderma* and *Gliocladium*. Vol. 2. Enzymes, Biological Control and Applications. Taylor and Francis Ltd, London, UK; Kubicek, C.P., Mach, R.L., Peterbauer, C.K., Lorito, M. (2001): *Trichoderma*: from genes to biocontrol. J. Plant. Pathol. 83:11-23.; Morgan-Jones, G., Burch, K.B. (1987a): Studies in the genus *Phoma*. VIII. Concerning *Phoma medicaginis* var. *medicaginis*. Mycotaxon 30: 239-246.; Schirmböck, M., Lorito, M., Wang, Y.L., Hayes, C.K., Arsian-Atac, I., Scala, F., Harman, G.E., Kubicek, C.P. (1994): Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptabiol antibiotics: molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. Appl. Environ. Microbiol. 60: 4364-4370.; Seidl, V., Schmoll, M., Scherm, B., Balmas, V., Seiboth, B., Migheli, Q., Kubicek, C.P. (2006): Antagonism of *Pythium* blight of zucchini by *Hypocrea jecorina* does not require cellulase gene expression but is improved by carbon catabolite derepression. FEMS Microbiol. Lett. 257: 145-151.; Taylor, A. (1986): Some aspects of the chemistry and biology of the genus *Hypocrea* and its anamorphs, *Trichoderma* and *Gliocladium*. Proc. Nova Scotia Inst. Sci. 36: 27-58.; Weindling, R. (1932): *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. Phytopathology 22: 837-845.; Weindling, R. (1934): Studies on lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other fungi. Phytopathology 24: 1153-1179.