

**A gombatermesztésben súlyos problémaként ismert „zöldpenész” megbetegedést előidéző *Trichoderma* törzsek taxonómiai, mikopatológiai és epidemiológiai vizsgálata**

**OTKA F68381**

**Záró szakmai beszámoló**

**Dr. habil. Kredics László**

**egyetemi adjunktus, témavezető**

**1. A laskagomba zöldpenészes megbetegedésével kapcsolatos eredmények**

A *Trichoderma* törzsek biodiverzitásának és genetikai variabilitásának tanulmányozását a laskagomba termesztésére alkalmazott, szalmaalapú szubsztrátumból izolált *Trichoderma* törzseken végeztük. Az izolált törzsek azonosítását első lépésben a csiperke termesztésében komoly károkat okozó *Trichoderma aggressivum* fajra specifikus primerek segítségével végeztük. Ezt a törzsek ITS-szekvenciáinak meghatározása, majd egy, a *Trichoderma* izolátumok ITS-szekvenciaelemzés alapján történő fajsztintú besorolására alkalmas internetes program (*TrichOkey* 2.0) alkalmazása követte<sup>5</sup>.

A laskagomba termesztésére felhasznált alapanyagból származó minták esetében a *T. longibrachiatum*, *T. asperellum* és *T. atroviride* fajok néhány izolátuma mellett az izolátumok többségéről bebizonyosodott, hogy ezek egy, a *T. harzianum* és *T. aggressivum* fajokkal közeli rokonságban álló, de azoktól filogenetikailag egyértelműen elkülönülő, eddig még le nem írt, új *Trichoderma* csoport képviselői. Az új csoport az ITS-régió, a translációs elongációs faktort kódoló *tefl* gén és az endokitinázt kódoló *chi18-5* gén szekvenciaanalízise alapján két fajra bontható: 1 izolátum egy korhadó fatönkről Kanadában izolált *Trichoderma* törzssel, a *Trichoderma* sp. DAOM 175924 izolátummal azonos fajba tartozik, míg a fennmaradó 27 törzs attól filogenetikai szinten elkülönül. A két faj képviselői morfológiai jellegeik és elterjedtségük tekintetében is különböznek egymástól. A DAOM 175924 törzsnek megfelelő, *T. harzianum*-szerű morfológiát mutató faj a GenBank adatbázisában végzett homológiaeresések alapján széles körben elterjedt a természetben, képviselői kanadai, iráni, kínai, indiai, új-zélandi és európai talajokban egyaránt előfordulnak, hazánkban is sikerült megtalálnunk az őszi búza rizoszférájából származó mintákban. A másik, 27 *Trichoderma* törzs által képviselt faj izolátumai viszont *Gliocladium*-szerű morfológiát mutatnak, és eddig csak a laskagomba termesztésére alkalmazott alapanyagból sikerült izolálni őket. A két új *Trichoderma* faj jellemzése során bebizonyosodott, hogy az általunk *T. fulvidum* és *T. pleurotophilum* néven javasolt fajok megegyeznek koreai kutatók (Park és mtsai. *Mycobiology* 2006;34:111-113) által korábban *T. pleuroticola* és *T. pleurotum* néven leírt fajokkal. Szükségessé vált azonban a fajleírásoknak a nemzetközi tudományos igények figyelembe vételével történő pontosítása, ezért nemzetközi együttműködés keretében a morfológiai fajleírást alátámasztottuk az ITS, *tefl* és *chi18-5* lókuszek szekvenciáinak filogenetikai elemzésével, a *TrichOkey* 2.0 programot kibővítettük a két új faj DNS-vonalkódjaival<sup>13</sup> és törzsgyűjteményben elhelyeztük az új fajok általunk kiválasztott típusörzseit (a *T. pleuroticola* típusörzse a DAOM 175924-es izolátum, a *T. pleurotum* típusörzse pedig egyik hazai izolátumunk lett).

Tanulmányoztuk környezeti tényezők (hőmérséklet, pH, vízaktivitás) micéliumnövekedésre gyakorolt hatását szintetikus minimál- és laskagombaőrleményt tartalmazó táptalajokon, összehasonlítva a laskagombakártevő fajtát a *T. aggressivum* f.

*aggressivum*, *T. aggressivum* f. *europaeum* és *T. harzianum* fajok képviselőivel<sup>19</sup>. A *T. pleurotum* a *T. aggressivum* izolátumokhoz hasonlóan szűkebb hőmérsékleti tartományban (15-30°C) volt képes növekedni, mint a *T. pleurotica* és *T. harzianum* törzsek (10-35°C). Eredményeink alapján az átszövetési szakasz utáni fázisra 15°C és 18°C közötti hőmérsékleti érték fenntartása javasolható a zöldpenész-fertőzés kialakulásának és terjedésének megelőzése céljából. A *Trichoderma* törzsek micéliumnövekedésének a savas és neutrális (pH 5-7) körülmények kedveztek. Ezek alapján a termesztési alapanyag pH-jának 8-9 közötti értékre történő beállítása lassíthatja a *Trichoderma* növekedését, melynek eredményeként mérséklődhet a fertőzés terjedése. A vízáktivitás hatásának vizsgálata során a törzsek nagyobb telepeket képeztek a laskagombaőrleményt tartalmazó táptalajon, növekedési rátájuk pedig csökkent a vízáktivitás csökkenésével. A *Trichoderma* törzsek növekedésének a magasabb vízáktivitás-értékek kedveztek.

Felmértük a zöldpenészt okozó *Trichoderma* érzékenységet a mezőgazdasági gyakorlatban széles körben alkalmazott fungicidekkel szemben. Az eredmények alapján a karbendazim, a benomil és a prokloráz hatásosnak bizonyultak a laskagombapatógén *Trichoderma* törzsek ellen<sup>8</sup>. A különböző szénforrások felhasználásának BIOLOG módszerrel történő vizsgálata kimutatta, hogy a *T. pleurotum* bizonyos szénforrásokat nem képes hasznosítani, így ez a faj feltehetőleg erősebben specializálódott a laskagombatermesztés körülményeire<sup>13</sup>. Az *in vitro* antagonizmus-vizsgálatok eredményei alapján a két új faj a csiperkét a *T. aggressivum*-hoz hasonlóan képes antagonizálni, ezért - bár csiperkén történő kártételéről nincs adat - a *T. aggressivum*-hoz hasonló szénforráshasznosítási spektrummal rendelkező *T. pleurotica* a csiperketermesztésre is potenciális veszélyt jelenthet. Az *in vitro* antagonizmus-vizsgálatok eredményeit felhasználva kidolgoztunk egy képanalízisen alapuló módszert a gombakártevő *Trichoderma* törzsek agresszivitási fokának kvantitatív meghatározására<sup>28</sup>. Eredményeink kvantitatív adatokkal támasztják alá azt a korábbi megfigyelésünket, hogy a laskagombapatógén *T. pleurotica* és *T. pleurotum* fajok a csiperkepatógén *T. aggressivum* f. *europaeum* és f. *aggressivum* fajoknál sokkal hatékonyabban képesek *in vitro* körülmények között antagonizálni a *Pleurotus ostreatus*-t.

Enzimológiai vizsgálataink során extracelluláris enzimek (celluláz, kitináz, glukanáz, proteáz és lipáz) termelését vizsgáltuk nem-induktív (minimál tápoldat) és induktív (laskagombaőrleményt, szalmaőrleményt, ill. ezek kombinációját tartalmazó tápoldatok) körülmények között<sup>15,17</sup>. Jelentős eltérést tapasztaltunk a két laskagombakártevő *Trichoderma* faj proteolitikus enzimeinek aktivitásában: míg a *T. pleurotum* proteolitikus enzimmrendszerét a szalmaőrlemény, addig a *T. pleurotica*-ét a laskagombaőrlemény indukálja. További érdekesség, hogy ellentétben a *T. aggressivum* fajjal, az újonnan leírt laskagombakártevő fajok esetében nem tapasztalható konstitutív *N*-acetyl-glükózaminidáz aktivitás. Eredményeink arra utalnak, hogy a két, közeli rokon laskagombakártevő faj számos ponton eltérő stratégiát alkalmaz a laskagombatermesztésben fennálló körülményekhez történő alkalmazkodás céljára. Az egyes enzimmrendszerek termelésében csökkent képességű mutáns törzseket állítottunk elő *T. pleurotum*-ból UV-mutagenézissel, és *in vitro* antagonizmus-vizsgálatokat végeztünk a vad típusú és mutáns *Trichoderma* törzsekkel az egyes enzimek fertőzési folyamatban betöltött szerepének vizsgálata céljából<sup>10</sup>. A proteáz, lipáz, kitináz és glukanáz enzimmrendszerekben deficiens *T. pleurotum* mutánsok laskagombával szemben jelentősen csökkent antagonistá képességgel rendelkeztek.

A laskagomba zöldpenészes fertőzésének gyors terjedése miatt sürgetővé vált egy hatékony diagnosztikai módszer kidolgozása. A két laskagombapatógén *Trichoderma* faj epidemiológiai nyomkövetésének céljából kidolgoztunk egy multiplex PCR-alapú, specifikus diagnosztikai módszert<sup>16,20</sup>. A specifikus indítószekvenciákat a nemzetség Lixii/Catoptron kládjába tartozó fajok *tefl* génszekvenciáinak illesztése alapján terveztük, melyek 3' vége NCBI BLAST elemzések alapján nem mutat teljes homológiát sem az ismert

*Trichoderma* és *Pleurotus ostreatus* szekvenciákkal, sem egyéb ismert fonalgombaszekvenciákkal, továbbá a laskagomba termesztésére alapanyagként alkalmazott búza ismert genomszekvenciájának egyetlen részletével sem. A *tefl* gén 4. és 5., variábilis intronjainak szekvenciáján alapuló rendszer három indítoszekvenciát foglal magába, melyből egy indítoszekvencia-pár specifikusan elkülöníti a két laskagombapatogén fajt a többi *Trichoderma* fajtól, míg a 3. indítoszekvencia kizárólag a *T. pleurotum*-ra specifikus. Az optimalizált PCR a *T. pleurotum* törzsekből 2, a *T. pleuroticola* faj képviselőiből pedig 1 fragmentet eredményez, ezzel lehetővé téve a laskagombapatogének kimutatását és egymástól való elkülönítését. A *T. pleurotum* és *T. pleuroticola* fajokon kívül még további 28 *Trichoderma* fajjal és számos más gombával is teszteltük a fent vázolt multiplex PCR-rendszert, és egyik esetben sem tapasztaltunk keresztreakciót. Az eredmények alapján tehát ennek a hármas indítoszekvencia-készletnek az alkalmazásával a *T. pleurotum* és a *T. pleuroticola* egyértelműen elkülöníthető egymástól és más gombafajoktól is. Módszerünk tiszta tenyészet készítése nélkül alkalmazhatónak bizonyult a két fajnak közvetlenül, a laskagomba termesztésére alkalmazott szalmaalapú szubsztrátumból történő kimutatására is<sup>16</sup>, így segíthet abban, hogy a laskagomba zöldpenészes fertőzöttsége már a korai szakaszban felismerhető legyen, megnyitva az utat a megfelelő védekezési eljárások alkalmazása előtt.

Epidemiológiai felméréseink során vizsgáltuk a laskagomba zöldpenészes fertőzésének lehetséges forrásait, mintavételezést hajtottunk végre egy érintett gombatermesztő üzemben és közvetlen földrajzi környezetében, valamint nyomon követtük a laskagomba termesztésére alkalmazott alapanyag készítési folyamatát és az ezt követő termesztési fázisokat. Ezen túl, a zöldpenészes probléma biogeográfiai vonatkozásainak tanulmányozása céljából alapanyagmintákat szereztünk be más országokból (Románia, Spanyolország, India) is, és vizsgáltuk az agresszív *Trichoderma* fajok jelenlétét az egyes mintákban.

Korábbi adataink alapján a búza rizoszférájának *Trichoderma*-közösségeiben a *T. harzianum* bizonyult a domináns fajnak. Ezzel a korábbi megfigyeléssel összhangban az általunk vizsgált, alapanyaggyártási folyamat során felhasznált bontatlan szalmabálákból, forgatott szalmából és hulladékszalmából származó mintákban egyaránt a *T. harzianum* faj képviselőit izoláltuk nagy számban. A vizsgált csurgalékvízmintákból *T. atroviride* és *T. harzianum* törzseket, a telephelyen vett földmintából *T. virens*-et izoláltunk. A termesztési alapanyag hőkezelését közvetlenül követő mintavételezéseink során viszont egyszer sem sikerült *Trichoderma* törzseket izolálni, és a leoltáshoz használt csíraminták is *Trichoderma*-mentesnek bizonyultak. A fentiek arra engednek következtetni, hogy a laskagombapatogén fajok termesztési rendszerbe jutása nem a búzaszalma útján történik, hanem a fertőzés feltehetően a termesztőhelyiségekben éri a már hőkezelt, átszövetett termesztőzsákokat.

Az általunk kifejlesztett PCR-technika segítségével sikerült igazolnunk azt a feltételezést, hogy a laskagomba zöldpenészes fertőzésének terjesztésében szerepet játszhatnak a termesztő telepeken jelenlevő rovarok. A vizsgált, laskagombatermesztéssel foglalkozó cég termesztőhelyeiből származó, légyapír segítségével elfogott rovarok felszínéről 24 *Trichoderma* törzset izoláltunk<sup>11,27</sup>. A multiplex PCR-en alapuló technikánk alkalmazásával a 24 törzs közül 19 esetben kaptunk pozitív jelet. Ebből 17 esetben a reakció 2 fragmentet eredményezett, arra utalva, hogy a rovarok felszínéről izolált *Trichoderma* törzsek többsége, 70,83%-a a *T. pleurotum* fajba tartozik. A másik laskagombakártevő *Trichoderma* faj, a *T. pleuroticola* 2 izolátummal (8,33%) képviseltette magát a mintában. Eredményeink összhangban vannak a *Trichoderma* nemzetség hazai laskagombatermesztőhelyeken megfigyelhető biodiverzitásáról tudósító adatainkkal<sup>5,13</sup>, melyek szerint a Magyarországon vizsgált termesztőhelyeken a *T. pleurotum* a laskagomba zöldpenészes fertőzésének fő okozója. A diagnosztikus PCR-rel kapott eredményeket a *Trichoderma* izolátumok ITS-szekvenciáinak a *TrichOKEY* 2.0 programmal történő elemzésével

ellenőriztük. A szekvenciaelemzés mind a 19 laskagombakártevő törzs esetében igazolta a diagnosztikus PCR-rel kapott eredményeket, és kimutatta, hogy a fennmaradó 5 izolátum, melyek a multiplex reakcióban nem adtak sávot, 3 további *Trichoderma* fajt (*T. harzianum*, *T. longibrachiatum* és *T. citrinoviride*) képvisel.

A kidolgozott diagnosztikai módszer segítségével azonosítottuk a fertőzés egy lehetséges forrását is: sikerült a *T. pleurotica* előfordulását kimutatni a vadon termő laskagomba természetes szubsztrátumában<sup>7,20</sup>. Érdekesség, hogy míg ez a faj búzaföldek rizoszférájából kis gyakorisággal izolálható, addig a laskagomba természetes szubsztrátumának *Trichoderma*-közösségeiben gyakran domináns fajként jelenik meg. Ezek alapján a vadon termő laskagomba természetes szubsztrátuma a természetűüzemekben bekövetkező *T. pleurotica*-fertőzések rezervoárja lehet<sup>20</sup>. A *T. pleurotica* mellett ezen a speciális élőhelyen a *T. longibrachiatum*, *T. harzianum* és *T. atroviride* fajok képviselőit is megtaláltuk. A vadon termő laskagomba természetes szubsztrátuma a termesztési rendszerekben alkalmazott búzaszalma-alapú szubsztrátumtól merőben különböző élőhely. Ezen kívül, bár Dél-Koreában a laskagomba termesztése más alapanyagokon, pl. fűrészporon, rizsszalmán, gyapotmaradványokon zajlik, a laskagombapatogén *Trichoderma* fajok kártétele ezekben a termesztési rendszerekben is jelentkezik. Ezek alapján a laskagomba zöldpenészes megbetegedését okozó *Trichoderma* fajok elterjedését nem a termesztési alapanyag minősége, hanem a laskagomba jelenléte befolyásolja.

Az általunk vizsgált hazai laskagombatermesztő üzemben a közelmúltban kísérleti jelleggel shiitake (*Lentinula edodes*) termesztésébe is kezdtek, és a zöldpenész-probléma a shiitake esetében is jelentkezett. Legújabb eredményeink alapján – míg a telephelyen a laskagomba termesztésében a *T. pleurotum* faj okozza a problémákat – a shiitake termesztéséből vett mintákban kizárólag a *T. pleurotica* faj képviselőit detektáltuk. Bebizonyosodott tehát, hogy a *T. pleurotica* a shiitake termesztésében is potenciális veszélyt jelent, illetve hogy a két gomba párhuzamos termesztése során a *T. pleurotum* a laskagombát, a *T. pleurotica* pedig a shiitake-t részesíti előnyben.

A vizsgált laskagombatermesztő üzem területén levegőmintavevővel vett minták elemzése meglepő eredményt hozott: laskagombapatogén *Trichoderma* fajokat még a zöldpenészes fertőzés által súlyosan érintett természetűházak levegőjében sem detektáltunk. A *T. pleurotum* faj képviselőit nem találtuk meg egyetlen levegőmintában sem, *T. pleurotica*-t pedig egyedül a letermelt természetűzsákokat feldolgozó, közeli biogázüzem területén, zöldpenésszel fertőzött zsákok lerakódása közben vett levegőmintákból sikerült izolálnunk.

Míg - szakirodalmi adatok alapján - az olaszországi laskagombafarmokon a *T. pleurotica* dominál, addig az általunk vizsgált, magyarországi, romániai és spanyolországi laskagombatermesztő üzemekből származó izolátumok többsége a *T. pleurotum* fajba sorolható<sup>5,19,31</sup>. A indiai laskagombatermesztésből származó mintákban nem sikerült kimutatnunk egyik laskagombapatogén *Trichoderma* fajt sem.

Eredményeink alapján a laskagomba termesztésére alkalmazott alapanyagokban, valamint a vadon termő laskagomba természetes szubsztrátumán a zöldpenészt okozó *Trichoderma* fajok után a leggyakrabban előforduló *Trichoderma* faj a *T. longibrachiatum*. Ez a faj a közelmúlt kutatási eredményei alapján a nemzetség humán megbetegedések okozására képes, opportunistá patogén képviselője. A gombatermesztésből izolált *T. longibrachiatum* törzseket bevontuk egy, a *Trichoderma* nemzetség *Longibrachiatum* szekcióját vizsgáló filogenetikai analízisbe<sup>4</sup>. Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a *T. longibrachiatum* - a nemzetség többi képviselőjétől eltérően - speciális élőhelyeket részesít előnyben, és ezek közé tartoznak a gombatermesztési alapanyagok is. A gombatermesztési alapanyagokban más élőhelyekhez képest tehát nagyobb denzitással fordulhat elő egy potenciális opportunistá humán kórokozó gomba, mely veszélyt jelenthet a rizikócsoportokba tartozó személyekre. Így a gombatermesztésben a *Trichoderma* fajok általi fertőzés

megelőzése, és az ellenük való védekezés nem csak a zöldpenész-probléma megakadályozása, hanem a lehetséges humánegészségügyi kockázatok mérséklése szempontjából is kiemelt jelentőségű.

A laskagombatermesztés során a zöldpenészt okozó *Trichoderma* törzsek elleni leghatásosabb védekezési mód a megelőzés: a megfelelő higiéniai előírások betartásával a zöldpenész megjelenése megakadályozható. Ha viszont a probléma már jelentkezett egy termesztőhelyen, rendkívül nehézé válik a helyzet kezelése, mivel a laskagombapatogén *Trichoderma* törzsek az ilyen telepeken általában újra és újra felbukkannak. Szükség lenne ezért olyan megfelelő kezelésekre, melyek segítségével a termés megvédhető. A laskagomba termesztésében az Európai Unió területén semmilyen kémiai vegyszer használata nem engedélyezett, így alternatívaként a biológiai védekezés lehetősége jöhet szóba. Munkánk során a laskagomba zöldpenészes megbetegedéséért hazánkban elsősorban felelős *T. pleurotum* faj képviselőit antagonizálni képes baktériumtörzseket izoláltunk. Egy *Bacillus subtilis* és egy *B. amyloliquefaciens* törzs, valamint egy *B. licheniformis* törzsből származó sztreptomycin-rezisztens mutáns *in vitro* nagyon hatékonyan bizonyultak a *T. pleurotum* ellen, míg a laskagombára nem volt negatív hatásuk. A *B. amyloliquefaciens* törzs ígéretes jelölt lehet a biológiai védekezés céljaira, mivel termesztési körülmények között is hatékonyan bizonyult, emellett a terméshozamot a *Trichoderma* által nem fertőzött termesztőzsákokon is képes volt fokozni<sup>29,30</sup>.

## 2. A csiperke zöldpenészes megbetegedésével kapcsolatos eredmények

Megállapítottuk, hogy a hazai csiperketermesztésben leggyakrabban előforduló és a zöldpenész tünetegyüttes kialakításáért felelős *Trichoderma* faj nem más, mint a Nyugat-Európában a 80-as évek közepe óta ismert *T. aggressivum* f. *europaeum*<sup>5</sup>. A törzsek biodiverzitásának ITS-szekvenciákon és mtDNS RFLP-analízisen alapuló vizsgálata során az is bebizonyosodott, hogy a hazai izolátumok genetikailag megegyeznek az első, írországi járvány kórokozójával. Igazoltuk tehát, hogy a Nyugat-Európai csiperkevész kórokozója érte el Magyarországot. A kártevő *Trichoderma aggressivum* faj hazai populációi genetikailag homogénnek bizonyultak, különbségeket az izolátumok között csak egy általunk felfedezett, 5 kilobázis nagyságú, mitokondriális lokalizációjú, kétszálú DNS-plazmid jelenlétében, ill. hiányában tapasztaltunk. A vizsgált hazai csiperkekomposzt-mintákban a *T. aggressivum* f. *europaeum* faj mellett a *T. longibrachiatum*, *T. asperellum*, *T. atroviride* és *T. ghanense* fajok előfordulását sikerült kimutatni.

Eredményeink alapján a csiperkét és laskagombát támadó, kártevő *Trichoderma* k erősen specializálódtak a gazdaszervezetre és a termesztési körülményekre, kevert megjelenésük még akkor sem fordul elő, ha egy termesztőhelyen csiperke- és laskagombatermesztés egyaránt folyik.

Epidemiológiai vizsgálataink során egy hazai csiperkekomposztot gyártó cég telephelyén, és a legyártott komposztot felhasználó termesztőhelyeken mintavételezéssel követtük végig a gyártási és termesztési folyamatot: mintákat vettünk a komposztgyártás alapanyagaiból (csirketrágya, lótrágya, szalma, szójaliszt), a leoltásra alkalmazott csírából, valamint a termesztőhelységek faláról és az alkalmazottak ruháiról és cipőiről. A leggyakrabban előforduló fajok a *T. harzianum* és *T. atroviride* voltak, de egy még le nem írt faj, a *Longibrachiatum* szekcióba sorolható *Trichoderma* sp. MA 3642 képviselőjét is sikerült izolálnunk. *T. aggressivum* f. *europaeum*-ot kizárólag a zöldpenésszel fertőzött komposztmintákban sikerült kimutatnunk. A vizsgált, hőkezelt alapanyagminták és a csíraminták egyaránt *Trichoderma*-mentesnek bizonyultak. A hazai minták mellett lehetőségünk nyílt horvátországi komposztminták vizsgálatára is. Érdekeség, hogy míg Magyarországon több alapanyaggyártó és termesztő üzem esetében is sikerült azonosítanunk

a *T. aggressivum* f. *europaeum*-ot a zöldpenész-probléma okozójaként, addig a horvátországi mintákban kizárólag *T. harzianum*-ot sikerült izolálnunk<sup>12</sup>. Eredményeink alapján tehát a *T. aggressivum* faj mellett bizonyos *T. harzianum* biotípusok is képesek zöldpenészes problémát okozni a csiperke termesztésében. A vizsgált, horvátországi komposztmintákban előforduló baktériumok között sikerült a biológiai védekezés céljaira ígéretes törzseket azonosítanunk.

A csiperke zöldpenészes megbetegedését okozó *T. aggressivum* faj képviselőit mindeztáig csak gombatermesztésből sikerült izolálni, a fertőzés természetes forrása nem ismert. Mivel a laskagomba egyik zöldpenész-kártevőjét, a *T. pleurotica* fajt sikerült megtalálnunk a vadon termő laskagomba természetes környezetében, figyelmünket a vadon termő csiperkefajok *Trichoderma*-közösségeinek vizsgálatára fordítottuk annak a kérdésnek a megválaszolása céljából, hogy a vadon termő csiperkefajok lehetnek-e esetleg a csiperketermesztésben problémát okozó *T. aggressivum* törzsek természetes forrásai<sup>1,2</sup>. A vizsgálatba vont, vadon termő *A. bitorquis* és *A. sylvicola* környezetéből és termőtestfelszínéről vett mintákban az alábbi *Trichoderma* fajok jelenlétét mutattuk ki: *T. atroviride*, *T. tomentosum*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. koningiopsis* és *T. virens*. A zöldpenészt okozó *T. aggressivum* faj képviselőit nem sikerült detektálnunk, így a csiperketermesztésben fellépő zöldpenészes fertőzések természetes forrása továbbra is ismeretlen.

### 3. Az eredmények felhasználása az ismeretterjesztés és oktatás területén

Mivel az elmúlt években komoly méretekben jelentkezett a termesztett gombákat károsító *Trichoderma* fajok kártétele, ezért rendkívül fontos, hogy a róluk rendelkezésre álló új kutatási eredmények a hazai és külföldi gombatermesztőkhöz egyaránt eljussanak. Ezért széleskörű tájékoztató kampányba kezdtünk, melynek részét képezik az Élet és Tudomány<sup>14</sup>, a Mikológiai Közlemények – Clusiana<sup>21</sup> és a Zöldség-Gyümölcs Piac és Technológia<sup>24</sup> szaklapokban megjelent magyar nyelvű közlemények, a *T. pleurotum* és *T. pleurotica* fajokról rendelkezésre álló adatokat összefoglaló review-cikkek<sup>6,9</sup>, a *T. aggressivum* fajról készített összefoglaló könyvfejezet<sup>25</sup>, valamint a nemzetközi konferenciákon ill. szemináriumokon<sup>7,10,11,17,29</sup> és hazai rendezvényeken<sup>22,23</sup>, pl. a Pilze-Nagy Kft. által 2010-ben szervezett „Hatékony növényvédelem a gombatermesztésben növényvédő szerek alkalmazása nélkül” című szakmai napon és a Kutatók Éjszakája 2009-es szegedi rendezvényén tartott előadások.

2009-ben elkészítettem és benyújtottam, 2010-ben pedig 100%-os eredménnyel sikeresen megvédtem habilitációs értekezésem<sup>18</sup>, melynek egyharmad részét az F68381 jelű OTKA-projekt során elért eredmények ismertetése képezi. Témavezetéssel készült, a projekttel összefüggő további értekezések: 1 sikeresen megvédett PhD-dolgozat<sup>8</sup>, 1 sikeresen megvédett diplomamunka<sup>3</sup>, 3 sikeresen megvédett szakdolgozat<sup>2,26,32</sup> és 1 a helyi TDK fordulón 3. helyezéssel, a Magyar Élelmiszer-Tudományi és Technológiai Egyesület XVIII. Országos Tudományos Diákköri Konferenciáján pedig 2. díjjal jutalmazott pályamunka<sup>27</sup>.

### Irodalomjegyzék

1. Czifra D, Hatvani L, Nagy L, Manczinger L, Vágvölgyi C, **Kredics L**: *Trichoderma* communities associated with wild-growing *Agaricus* species, In: Gácsér A; Kucséra J; Pfeiffer I; Vágvölgyi C (szerk): Biology of pathogenic fungi - 2nd CESC 2010, Central European Summer Course on Mycology, JATE Press, Szeged, p 68. 2010
2. Czifra D (témavezető: **Kredics L**): Vadon termő csiperkegomba *Trichoderma*-közösségeinek molekuláris vizsgálata, Szakdolgozat, Szegedi Tudományegyetem, 2010

3. Cseh T (témavezető: **Kredics L**): Laskagomba zöldpenészes fertőzését okozó *Trichoderma pleurotum* törzsek ökofiziológiai, enzimológiai és epidemiológiai vizsgálata, Diplomamunka, Szegedi Tudományegyetem, 2010
4. Druzhinina IS, Komoń-Zelazowska M, **Kredics L**, Hatvani L, Antal Z, Belayneh T, Kubicek CP: Alternative reproductive strategies of *Hypocrea orientalis* and genetically close but clonal *Trichoderma longibrachiatum*, both capable to cause invasive mycoses of humans, *MICROBIOLOGY (UK)* 154: 3447-3459, 2008
5. Hatvani L, Antal Z, Manczinger L, Szekeres A, Druzhinina IS, Kubicek CP, Nagy A, Nagy E, Vágvölgyi C, **Kredics L**. Green mould diseases of *Agaricus* and *Pleurotus* are caused by related but phylogenetically different *Trichoderma* species. *PHYTOPATHOLOGY* 97: (4) pp. 532-537. 2007
6. Hatvani L, Kocsubé S, Manczinger L, Antal Z, Szekeres A, Druzhinina IS, Komoń-Zelazowska M, Kubicek CP, Nagy A, Vágvölgyi C, **Kredics L**: The green mould disease global threat to the cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*): a review, In: Gruening M (szerk.) Science and cultivation of edible and medicinal fungi. Pretoria, South Africa, pp. 485-495. 2008
7. Hatvani L, Kocsubé S, Manczinger L, Druzhinina IS, Kubicek CP, Vágvölgyi C, **Kredics L**: Specific PCR reveals that the substrate of wild grown *Pleurotus ostreatus* is a potential source of green mould affecting oyster mushroom production, In: 6<sup>th</sup> International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, Programme and Abstracts, p. 57. 2008
8. Hatvani L (témavezetők: **Kredics L**, Manczinger L): Mushroom pathogenic *Trichoderma* species: occurrence, biodiversity, diagnosis and extracellular enzyme production, PhD-disszertáció, Szegedi Tudományegyetem, 2008
9. Hatvani L, Manczinger L, Druzhinina IS, Komoń-Zelazowska M, Kubicek CP, Nagy A, Tishenkov A, Vágvölgyi C, **Kredics L**: "Green mould" (orosz nyelven), *SHKOLA GRIBOVODSTVA* 60: 28-33. 2009
10. Hatvani L, Sarrocco S, Vannacci G, Forti M, Manczinger L, Vágvölgyi C, **Kredics L**: Involvement of extracellular enzyme systems in the pathogenesis of *Trichoderma pleurotum* towards oyster mushroom, In: FEMS 2009: 3<sup>rd</sup> Congress of European Microbiologists: „Microbes and Man - interdependence and future challenges” Book of Abstracts, CD-ROM, 2009
11. Hatvani L, Kocsubé S, Nagy L, Komoń-Zelazowska M, Manczinger L, Cseh T, Körmöczi P, Nagy A, Druzhinina IS, Kubicek CP, Vágvölgyi C, **Kredics L**: Epidemiological questions of the green mould disease of cultivated oyster mushroom, In: FEMS 2009: 3<sup>rd</sup> Congress of European Microbiologists: „Microbes and Man - interdependence and future challenges” Book of Abstracts, CD-ROM, 2009
12. Hatvani L, Czifra D, Manczinger L, Vágvölgyi C, Ivic D, Milicevic T, Dermic E, **Kredics L**: Examination of the *Trichoderma*-caused green mold disease of cultivated *Agaricus bisporus* in Croatia. In: Power of Microbes in Industry and Environment 2010, Malinska, Croatia, Book of Abstracts, in press.
13. Komoń-Zelazowska M, Bissett J, Zafari D, Hatvani L, Manczinger L, Woo S, Lorito M, **Kredics L**, Kubicek CP, Druzhinina IS. Genetically closely related but phenotypically divergent *Trichoderma* species cause world-wide green mould disease in oyster mushroom farms. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* 73: (22) pp. 7415-7426. 2007
14. **Kredics L**: Penészinvázió: Bajban a gombatermesztők, *ÉLET ÉS TUDOMÁNY* LXIII:(25) 777-779, 2008
15. **Kredics L**, Cseh T, Körmöczi P, Hatvani L, Antal Z, Manczinger L, Vágvölgyi C: Proteolytic enzyme production of the causative agents of oyster mushroom green mould

- under inductive and non-inductive conditions, ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA 55: 211-212, 2008
16. **Kredics L**, Kocsubé S, Manczinger L, Antal Z, Szekeres A, Druzhinina IS, Komon-Zelazowska M, Kubicek CP, Vágvölgyi C, Hatvani L: Detection of *Trichoderma pleurotum* and *T. pleuroticola*, the causative agents of oyster mushroom green mould in the cultivation substrate of *Pleurotus ostreatus* by a PCR-based test, ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA 55: 209-210, 2008
  17. **Kredics L**, Cseh T, Körmöczi P, Hatvani L, Manczinger L, Vágvölgyi C: Extracellular enzyme production of the two causative agents of oyster mushroom green mould under inductive and non-inductive conditions, In: 6<sup>th</sup> International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, Programme and Abstracts, p. 48. 2008
  18. **Kredics L**: Mezőgazdasági és klinikai szempontból jelentős *Trichoderma* fajok taxonómiai és ökofiziológiai vizsgálata, molekuláris diagnosztikájuk lehetőségei, Habilitációs értekezés, Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar, 2009
  19. **Kredics L**, Körmöczi P, Cseh T, Hatvani L, Manczinger L, Nagy A, Vágvölgyi C: Green mould disease of oyster mushroom in Hungary and Romania: ecophysiology of the causative agents, JOURNAL OF ENGINEERING - ANNALS OF THE FACULTY OF ENGINEERING HUNEDOARA 7: 195-198, 2009
  20. **Kredics L**, Kocsubé S, Nagy L, Komon-Zelazowska M, Manczinger L, Sajben E, Nagy A, Vágvölgyi C, Kubicek CP, Druzhinina IS, Hatvani L: Molecular identification of *Trichoderma* species associated with *Pleurotus ostreatus* and natural substrates of the oyster mushroom, FEMS MICROBIOLOGY LETTERS 300: 58-67, 2009
  21. **Kredics L**, Cseh T, Körmöczi P, Nagy A, Kocsubé S, Manczinger L, Vágvölgyi C, Hatvani L: A termesztett laskagomba zöldpenészes fertőzése, MIKOLÓGIAI KÖZLEMÉNYEK - CLUSIANA, 48: 81-92, 2009
  22. **Kredics L**, Kocsubé S, Nagy L, Komon-Zelazowska M, Manczinger L, Cseh T, Körmöczi P, Antal Z, Nagy A, Druzhinina IS, Kubicek CP, Vágvölgyi C, Hatvani L: New agricultural pests emerging: The green mould disease of cultivated oyster mushroom, In: A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2008. évi Nagygyűlése és a XI. Fermentációs Kollokvium, Absztraktfüzet, pp. 45-46. 2008
  23. **Kredics L**, Cseh T, Körmöczi P, Kocsubé S, Manczinger L, Nagy A, Vágvölgyi C, Hatvani L: A laskagomba termesztésében problémát okozó *Trichoderma* fajok epidemiológiai és ökofiziológiai vizsgálata, In: Körmöczi L (szerk) 8. Magyar Ökológus Kongresszus, Előadások és poszterek összefoglalói, p. 123. 2009
  24. **Kredics L**, Hatvani L, Körmöczi P, Manczinger L, Vágvölgyi C: A termesztett gombák zöldpenészes fertőzése, ZÖLDSÉG-GYÜMÖLCS PIAC ÉS TECHNOLÓGIA 2010(4): 13
  25. **Kredics L**, García Jimenez L, Naeimi S, Czifra D, Urbán P, Manczinger L, Vágvölgyi C, Hatvani L: A challenge to mushroom growers: the green mould disease of cultivated champignons, In: Méndez-Vilas A (szerk.) Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. Badajoz: FORMATEX, in press, 2010
  26. Körmöczi P (témavezető: **Kredics L**): Laskagomba zöldpenészes fertőzését okozó *Trichoderma pleuroticola* törzsek ökofiziológiai, enzimológiai és epidemiológiai vizsgálata, Szakdolgozat, Szegedi Tudományegyetem, 2009
  27. Körmöczi P, Cseh T (témavezető: **Kredics L**): Termesztett laskagomba zöldpenészes fertőzését okozó *Trichoderma* törzsek ökofiziológiai, enzimológiai és epidemiológiai vizsgálata, Magyar Élelmiszer-Tudományi és Technológiai Egyesület, XVIII. OTDK, Összefoglalók, p. 24, 2010



28. Körmöczi P, Leitgeb B, Cseh T, Hatvani L, Manczinger L, Vágvölgyi C, **Kredics L**: An image analysis-based method for the evaluation of the aggressivity of *Trichoderma* strains towards *Pleurotus ostreatus*, ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA 56:(S) 188-189, 2009
29. Nagy A, Manczinger L, **Kredics L**, Hatvani L, Gyórfi J, Turóczy G, Antal Z, Sajben E, Vágvölgyi C: Green mold disease of *Pleurotus ostreatus* in Hungary and advances in its biocontrol, In: 6<sup>th</sup> International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, Programme and Abstracts, p. 60. 2008
30. Nagy A, Manczinger L, Tombácz D, Hatvani L, Gyórfi J, Antal Z, Sajben E, Vágvölgyi C, **Kredics L**: Biological control of oyster mushroom green mould disease by antagonistic *Bacillus* species, IOBC/WPRS BULLETIN in press, 2010
31. Urbán P, Garcia Jimenez L, Hatvani L, Nagy A, Vágvölgyi C, **Kredics L**: Oyster mushroom green mould disease: biodiversity of the causal agents in Hungary and Spain, In: Gácsér A; Kucsera J; Pfeiffer I; Vágvölgyi C (Eds): Biology of pathogenic fungi - 2<sup>nd</sup> CESC 2010, Central European Summer Course on Mycology, JATE Press, Szeged, p 69., 2010
32. Urbán P (témavezető: **Kredics L**): A laskagomba-zöldpenész betegség kórokozóinak molekuláris alapú összehasonlítása különböző országokban, Szakdolgozat, Szegedi Tudományegyetem, 2010