

# MEZŐGAZDASÁGI ÉS VIDÉKFEJLESZTÉSI KUTATÁSOK A JÖVŐ SZOLGÁLATÁBAN 2.

Tudomány: iránytű az elérhető jövőhöz

Szerkesztette:  
Hampel György  
Kis Krisztián  
Monostori Tamás



MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA  
SZEGEDI AKADÉMIAI BIZOTTSÁG  
Mezőgazdasági Szakbizottság

Szeged, 2021

A tanulmánykötet megjelentetését a Magyar Tudományos Akadémia támogatta.

Kiadó:  
Magyar Tudományos Akadémia Szegedi Akadémiai Bizottság  
Mezőgazdasági Szakbizottság  
6720 Szeged, Somogyi u. 7.  
Telefon: +36 62 553 910  
Fax: +36 62 553 912  
E-mail: szab@tab.mta.hu

Technikai szerkesztő:  
Hampel György

Nyomdai munkálatok:  
Innovariant Nyomdaipari Kft.  
6750 Algyő, Ipartelep 4.  
Telefon: +36 (62) 493-626, +36 (62) 493-638  
Fax: +36 62 493 914  
E-mail: nyomda@innovariant.hu

ISBN 978-963-508-980-2

## SZERKESZTŐK

<i>Dr. Hampel György</i>	PhD, főiskolai docens, Szegedi Tudományegyetem Mérnöki Kar, Mérnöki Menedzsment és Ökonómiai Intézet (Szeged)
<i>Dr. habil. Kis Krisztián</i>	PhD, egyetemi docens, Szegedi Tudományegyetem Mérnöki Kar, Mérnöki Menedzsment és Ökonómiai Intézet (Szeged); elnök, Agrárökonómiai Munkabizottság, MTA SZAB X. Mezőgazdasági Szakbizottság (Szeged)
<i>Dr. Monostori Tamás</i>	PhD, főiskolai tanár, intézetvezető, Szegedi Tudományegyetem Mezőgazdasági Kar, Növénytudományi és Környezetvédelmi Intézet (Hódmezővásárhely); elnök, X. Mezőgazdasági Szakbizottság, MTA SZAB (Szeged)

## TARTALOMJEGYZÉK

<b>Előszó</b> .....	9
<b>Bordé Ádám – Allaga Henrietta – Monostori Tamás – Vágvölgyi Csaba:</b> Epifita és endofita gomba- és baktériumtörzsek izolálása egy levélen keresztül ható lombkezelő készítmény kifejlesztése céljából .....	11
<b>Ecséri Károly – Kiss Tímea:</b> fenntartható gyűjteményes kert az alföldön - az NJE KVK dendrológiai gyűjteményének korbecslése .....	25
<b>Ferencz Árpád – Vojnich Viktor – Csiba Anita:</b> Agrárgazdasági szövetkezetek vidékfejlesztést szolgáló tevékenysége .....	33
<b>Gráff Myrtil – Tóth Violetta – Mikó Edit:</b> Fejési rendszerek összehasonlítása a tejmenyiség, szomatikus sejttség és a tejösszetétel szempontjából.....	41
<b>Hampel György:</b> Információfeldolgozás és döntéstámogatás gazdák számára Microsoft Excellel .....	51
<b>Komarek Levente:</b> A hazai állatállomány strukturális változásának területi alakulása .....	61
<b>Kujáni Katalin – Ferencz Árpád – Csiba Anita:</b> Gazdálkodás és a klímaváltozás kapcsolata .....	71
<b>Kusza Szilvia – Hegedűs Bettina – Bagi Zoltán:</b> Korszerű genetikai eszközökkel elért eredményeink az élhető jövő érdekében - az állatvilágot érő kihívások kezelése a klímaváltozás közepette.....	79
<b>Lantos Ferenc – Tóth Csenge – Makra László:</b> Az egyenyári üröm ( <i>Artemisia annua</i> L.) bioaktív anyagainak antioxidáns kapacitás vizsgálata .....	97
<b>Lendvai Edina – Tóth Anita:</b> Okos csomagolások az élelmiszeriparban és azok várható fogadtatása: egy kvantitatív felmérés tapasztalatai.....	103
<b>Majzinger István – Farkas Péter:</b> A mezei nyúl korcsoportok szerinti állományszintű szaporodási teljesítményének értékelése - új megközelítés .....	111
<b>Monostori Tamás – Tóth Gergely – Bordé Ádám – Vojnich Viktor – Jakab Péter – Láng Vince:</b> A szárazabb természetstechnológia fejlesztési lehetőségeinek vizsgálata a Dél-Alföldön .....	121
<b>Nagy Sándor:</b> A fenntartható fejlődésre irányuló számvevőszéki auditok hozzáadott értékének növelési lehetőségei .....	129
<b>Panyor Ágota – Szabó Klaudia Fanni:</b> Az álgabonák fogyasztási szokásainak vizsgálata a szegedi egyetemisták körében .....	143
<b>Pepó Péter:</b> Növénytermesztési kutatások a gyakorlat szolgálatában .....	157
<b>Ruzsa Dzszenifer Mária – Bodnár Károly:</b> Tehéntej fogyasztási szokások vizsgálata hazai vásárlók körében .....	175
<b>Szamosköziné Kispál Gabriella:</b> Költség-jövedelem viszonyok a szőlőtermelő gazdaságokban .....	179

<b>Szepesi-Bencsik Dóra:</b> Mi folyik itt? – Melléktermék vegyületek az ivóvízben .....	189
<b>Tar Melinda – Irmes Katalin – Vályi-Nagy Marianna – Kristó István:</b> Lombtrágya kezelések hatása az őszi búza termésére és terméselemeire .....	199
<b>Turiné Farkas Zsuzsa – Jóljárt Fanni:</b> Mini ciklámen fajták díszítőértékének vizsgálata a fenntartható termesztéshez .....	209
<b>Vojnich Viktor – Ferencz Árpád:</b> Különböző trágyázási módok hatása a kukoricatermesztés hatékonyságára .....	221
<b>Zsótér Brigitta – Zaka Norbert:</b> Vonalkódos raktár irányítási rendszer bevezetésének tervezése egy szeged környéki vállalatnál.....	227

## EPIFITA ÉS ENDOFITA GOMBA- ÉS BAKTÉRIUMTÖRZSEK IZOLÁLÁSA EGY LEVÉLEN KERESZTÜL HATÓ LOMBKEZELŐ KÉSZÍTMÉNY KIFEJLESZTÉSE CÉLJÁBÓL

Bordé Ádám<sup>1,2</sup> – Allaga Henrietta<sup>2</sup> – Monostori Tamás<sup>1</sup> – Vágvölgyi Csaba<sup>2</sup>

### ISOLATION OF EPIPHYTIC AND ENDOPHYTIC FUNGAL AND BACTERIAL STRAINS FOR THE DEVELOPMENT OF A FOLIAR FERTILIZER

<sup>1</sup>Szegedi Tudományegyetem Mezőgazdasági Kar, Növénytudományi és Környezetvédelmi Intézet, Hódmezővásárhely

<sup>2</sup>Szegedi Tudományegyetem Természettudományi és Informatikai Kar, Mikrobiológiai Tanszék, Szeged

**Absztrakt:** Napjaink egyik égető problémája az egyre nagyobb mértéket öltő globális kémiai környezetterhelés, illetve ennek káros következményei. Az ipar mellett a mezőgazdasági tevékenységekkel is számottevő vegyi anyag (pl. növényvédő szerek, műtrágyák) kerül a környezetbe, ezért fontos az ökológiai szemléletű és fenntartható megoldások keresése mind az ipari, mind a mezőgazdasági termelésben. A mezőgazdaságban az egyik ilyen potenciális lehetőség a biológiai növényvédelem, azon belül is a biokontroll ágensek (*biocontrol agent*, BCA) alkalmazása. Azokat a mikroorganizmusokat nevezzük biokontroll ágenseknek, amelyek képesek valamilyen módon a növényi kórokozókat elnyomni, kedvező esetben pedig még a növény növekedésének serkentéséhez is hozzájárulhatnak. Biokontroll ágensekre a baktériumok és a gombák között is számos példát találunk. Munkám során ilyen, jó biokontroll képességekkel rendelkező gomba- és baktériumtörzsek kutatásával foglalkozom. Eddigi munkánk során több mint 150 felszíni (epifita) és a növényi szövetek belsejében található (endofita) gomba- és baktériumtörzset izoláltunk különböző ültetvényekről származó édesburgonya [*Ipomoea batatas* (L.) LAM.] növényekből és a növényi rizoszférából. Közülük közel 50 izolátumot szekvenálási eljárás segítségével azonosítottunk, továbbá elvégeztük ezeknek a törzseknek az ökofiziológiai vizsgálatait (pl. hőmérséklet- és pH optimum, vízkaktivitás vizsgálat, enzimaktivitás mérések). Jelenleg a *Bacillus licheniformis* törzsek további vizsgálatával (pl. sziderofór termelőképeség, indol-ecetsav termelés, foszfor mobilizálás) foglalkozunk. Kutatómunkánk távlati célja, kiemelkedő biokontroll képességekkel rendelkező gomba- és baktériumtörzsek felhasználásával, egy magas depszipeptid tartalmú, kitozán nanorészecskékkel stabilizált lombkezelő készítmény kifejlesztése a mezőgazdaság számára.

**Abstract:** One of today's pressing problems is the increasing global chemical pollution and its harmful consequences. In addition to industry, agricultural activities also release a significant amount of chemicals (e.g., pesticides, fertilisers) into the environment, making it important to find ecological and sustainable solutions for both industrial and agricultural production. In agriculture, one of these potential options is the use of biological crop protection, including biocontrol agents (BCA). Microorganisms that have the potential to suppress plant pathogens in some way and, in favourable cases, even to stimulate plant growth, are called biocontrol agents. There are many examples of biocontrol agents, including bacteria and fungi. In my work I am investigating such strains of fungi and bacteria with good biocontrol capabilities. In our work so far, we have isolated more than 150 fungal and bacterial strains from the surface (epiphytes) and inside plant tissues (endophytes) of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) LAM.] plants from different plantations and from the plant rhizosphere. Among them, about 50 isolates have been identified by sequencing and ecophysiological studies of these strains (e.g., temperature and pH optimum, water activity assay, enzyme activity measurements) have been performed. Currently, detailed studies of *Bacillus licheniformis* strains (e.g., siderophore production capacity, indole acetic acid production, phosphorus mobilization) are being carried out.

The long-term goal of our research is to develop a foliar fertilizer formulation for agriculture with high depsipeptide content and stabilized with chitosan nanoparticles, using fungal and bacterial strains with outstanding biocontrol capabilities.

*Kulcsszavak:* biokontroll ágens, epifita, endofita, édesburgonya, lombkezelő készítmény

*Keywords:* biocontrol agent (BCA), epiphytic, endophytic, sweet potato, foliar fertilizer

## 1. Bevezetés

Napjainkban az ipari és mezőgazdasági tevékenységből származó kémiai környezetszennyezés visszaszorítása kulcsfontosságú a természeti környezet és az emberi egészség megóvása érdekében. Az intenzív mezőgazdasági és kertészeti technológiák révén évente több millió tonna természetidegen szintetikus vegyület (pl. műtrágya, peszticid) kerül kijuttatásra. A felhasznált vegyszereknek a legtöbb esetben csak kis része hasznosul és fejt ki a kívánt hatást, nagyobb részben kimosódással, illetve egyéb folyamatok során bekerülnek a talaj felső rétegeibe, a talajvízbe, vagy éppen a biológiai táplálékláncba.

A leírtakból is látható, hogy nagyon fontos az olyan ökológiai szemléletű technológiák kidolgozása és a mezőgazdasági gyakorlatba történő átültetése, amelyek hosszútávon a fenntartható, „környezetbarát” mezőgazdaság alapjait jelenthetik. A kémiai növényvédelem és a szintetikus anyagok használatára épülő termésfokozás jó alternatívái lehetnek a biológiai eredetű készítmények. Ilyen biológiai úton előállított készítmények (pl. talajoltó készítmények, növénykondicionáló szerek) használatával jelentősen csökkenhetjük a mezőgazdasági területeink vegyszerterhelését, továbbá fontos megemlíteni, hogy ezek a készítmények számos esetben a szintetikus vegyületek alkalmazásához mérhető kedvező hatást érhetnek el. A biológiai alapú készítmények alapjait úgynevezett biokontroll ágensek (*biocontrol agent* – BCA) képezik, amelyek képesek elnyomni a növényi kórokozókat, illetve szerencsés esetben egyéb kedvező tulajdonságuk is van (pl. serkentetik a növények fejlődését). Biokontroll ágensekre mind a baktériumok (Cantoro et. al., 2021), mind a gombák (Ghazanfar et. al., 2018) között számos példát találunk. A biokontroll ágensek lokalizációjukat tekintve két fő csoportra oszthatók, a növényi rizoszférában illetve a növényi szövetek felületén található úgynevezett epifita mikroorganizmusokra, illetve a belső növényi szövetekben található endofita mikroorganizmusokra (Bacon–White, 2016, Porras–Alfaro–Bayman, 2011). A biokontroll kutatás szempontjából a gombák közül a *Trichoderma* nemzetség, míg a baktériumok közül a *Bacillus* nemzetség tekinthető kiemelkedően fontosnak. A biológiai készítményekben található mikroorganizmusok különböző módon fejtik ki kívánatos hatásukat, ilyen lehet például a növényi védekezési mechanizmusok beindítása, a tápanyagok mobilizációja vagy éppen a növekedést elősegítő növényi hormonok termelésének serkentése. Itt fontos megemlíteni a bizonyos *Bacillus* törzsek által termelt fehérje természetű antibiotikumokat, összefoglaló néven depszipeptideket, amelyek számos növénypatogén mikroorganizmus ellen hatásosnak bizonyultak (Ongena–Jaques, 2008, Favaro et. al., 2016). Annak ellenére, hogy a biokontroll mikroorganizmusok

kutatása több évtizede folyik, újabb kedvező tulajdonságú biokontroll törzsek izolálása és jellemzése napjainkban is kiemelten fontos kutatási feladat (Raymaekerts et. al., 2020).

Munkánk során hazai édesburgonya ültetvényekről származó növény- és talajmintákból izolált gomba-, illetve baktériumtörzsek azonosításával és ökofiziológiai jellemzésével foglalkozunk, amelyek közül a jó biokontroll tulajdonságokkal rendelkező törzseket egy levélszinten alkalmazható készítmény létrehozása céljából vizsgáljuk.

## **2. Anyag és módszer**

### **2.1. Mintagyűjtés**

Kísérletes munkánk mintáit Ásotthalmon és Madarason található édesburgonya ültetvényekről gyűjtöttük. A mintabegyűjtés során gumó-, szár-, levél- illetve talajmintákat vettünk. A talaj és növény mintákat steril műanyag zacskóba helyeztük, lezártuk, és a további feldolgozásig +4 °C-on tároltuk.

### **2.2. Táptalajok**

A baktériumok izolálásához nisztatinnal (1 mg/l) és karbendazimmal (1 mg/ml) kiegészített élesztő-glükóz táptalajt (10 g/l glükóz, 5 g/l élesztőkivonat, 20 g/l agar), gombák esetén pedig egy gomba-szelektív táptalajt alkalmaztunk (1. táblázat). Az izolált gomba- és baktériumtörzsek fenntartásához minden esetben élesztő-glükóz táptalajt (10 g/l glükóz, 5 g/l élesztőkivonat) használtunk.

#### **1. táblázat: Az izolálás során alkalmazott gomba-szelektív táptalaj összetétele.**

szója pepton	5 g/l
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 g/l
glükóz	10 g/l
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,5 g/l
agar (bakteriológiai)	20 g/l
bengál vörös	0,5 mg/l
diklorán	1 mg/l
sztreptomycin	3 mg/l
klóramfenikol	3 mg/l

Forrás: A szerzők saját szerkesztése.

### **2.3. Epifita izolálás körülményei**

Az felszínen található mikroorganizmusok izolálásakor a gumó-, illetve szárminták esetében steril fültisztító pálcika segítségével a növényi minta felszínét alaposan átdörzsöltük, majd a pálcikát steril 0,9%-os fiziológiás sóoldatba merítettük a mikroorganizmusok lemosása céljából. Talajminták esetében steril eszközök felhasználásával 1 g talajra 10 ml steril 0,9%-os fiziológiás sóoldatot pipettáztunk.

Az így létrehozott szuszpenziókból hígítási sorokat készítettünk, majd a hígítási sor egyes tagjaiból 50-50 µl-t gomba-, illetve baktérium-szelektív táptalajokra



szélesztettünk. A telepképződést naponta ellenőriztük, a képződött telepek száma alapján CFU-t számoltunk.

#### 2.4. Endofita izolálás körülményei

Az endofita mikroorganizmusok izolálásához az Ásotthalmon és Madarason gyűjtött édesburgonya minták gumóját, szárát és levelét használtuk fel. Első lépésként a növényi mintákat vízzel alaposan megmostuk, majd papírtörő segítségével leitatattuk a nedvességet. A növényi részeket steril fülkében, steril szike és olló segítségével kb. 1 cm-es darabokra aprítottuk. A felszíni sterilizáláshoz a mintákat először 30 másodpercig 0,1% Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> oldatban áztattuk, majd további 30 másodpercre 70% etanolba helyeztük. Ezeket a lépéseket kétszer megismételtük. A második sterilizációs ciklus után a mintákat az etanol leszártítását követően baktérium-, illetve gomba szelektív táptalajra helyeztük. A mintákat tartalmazó csészéket a táptalaj kiszáradásának megelőzése céljából parafilmmel lezártuk, majd 25 °C-on, 10 napig inkubáltuk. A telepképződést naponta ellenőriztük (Vigneshwari et al., 2019, Turbat et al., 2020).

#### 2.5. DNS kivonás, PCR reakciók, azonosítás

Az izolátumok azonosításához először DNS kivonást végeztünk (*E.Z.N.A. HP Fungal DNA Kit; E.Z.N.A. Bacterial DNA Kit, Omega Bio-tek, USA*), majd PCR reakciókat állítottunk össze. Gombák esetében ITS szekvenciákra specifikus primer párt (ITS1-ITS4) (White et al., 1990), míg baktériumok esetén a *gyrA* (Reva et al., 2004) és *Eub* (Muyzer et al., 1993, Sajben-Nagy, 2011) szekvenciákra specifikus primer párokat alkalmaztunk a hivatkozásokban szereplő paraméterek szerint. A PCR termékeket tisztító kit (*E.Z.N.A. Cycle Pure Kit, Omega Bio-tek, USA*) segítségével tovább tisztítottuk. A szekvenálás külső szolgáltatás igénybevételével történt. A fajmeghatározáshoz a szekvenálás során kapott szekvenciákat az NCBI adatbázisában (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) „*standard nucleotide blast*” módban elemeztük.

#### 2.6. Baktériumtörzsek ökofiziológiai vizsgálatai

Az ökofiziológiai tesztek során a baktériumtörzsek hőmérséklet optimumát (25 °C és 37 °C) és pH optimumát (pH 4, 6 és 8), sótűrését (1, 2 és 5% NaCl), illetve extracelluláris enzimtermelését (lipáz, celluláz, proteáz és kitináz) vizsgáltuk. A vizsgálatokhoz minden esetben frissen kioltott törzsekből élesztő-glükóz tápoldatban (10 g/l glükóz, 5 g/l élesztőkivonat) 16 órás tenyésztést végeztünk (25 °C, 140 rpm). A tenyészetek OD (optikai denzitás) értékeit 620 nm-en, spektrofotométer segítségével határoztuk meg. Az adatok kiértékelését Microsoft Excel segítségével végeztük.

### 3. Eredmények

#### 3.1. Epifita izolálások eredményei

Munkánk során eddig összesen 56 epifita gombatörzset és 51 epifita baktériumtörzset izoláltunk különböző édesburgonya, illetve talajmintákból (2-3. táblázatok).

2. táblázat: Édesburgonya felszínéről, illetve talajból izolált gombatörzsek kódszámai.

	T1	G1	L1	T2	G2	L2	T3	G3	L3	T4	G4	L4	T5	G5	L5
1	T1/ G1	G1/ G1	L1/ G1	T2/ G1	G2/ G1	L2/ G1	T3/ G1	G3/ G1	L3/ G1	T4/ G1	G4/ G1	L4/ G1	T5/ G1	G5/ G1	L5/ G1
2	T1/ G2	G1/ G2	L1/ G2	T2/ G2	G2/ G2	L2/ G2	T3/ G2	G3/ G2	L3/ G2	T4/ G2	G4/ G2	L4/ G2	T5/ G2	G5/ G2	L5/ G2
3	-	G1/ G3	-	T2/ G3	G2/ G3	L2/ G3	T3/ G3	G3/ G3	L3/ G3	T4/ G3	G4/ G3	L4/ G3	-	G5/ G3	L5/ G3
4	-	-	-	T2/ G4	G2/ G4	-	T3/ G4	G3/ G4	-	T4/ G4	G4/ G4	L4/ G4	-	G5/ G4	-
5	-	-	-	T2/ G5	G2/ G5	-	-	G3/ G5	-	T4/ G5	-	L4/ G5	-	-	-
6	-	-	-	T2/ G6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

T: talajminta, G: gumóminta, L: levél- és szár minta; 1, 2, 3: ásothalmi minták, 4, 5: madarasi minták. Forrás: A szerzők saját szerkesztése.

3. táblázat: Édesburgonya felszínéről, illetve talajból izolált baktériumtörzsek kódszámai.

	T1	G1	L1	T2	G2	L2	T3	G3	L3	T4	G4	L4	T5	G5	L5
1	T1/ B1	G1/ /B1	L1/ B1	T2/ B1	G2/ /B1	-	T3/ B1	G3/ /B1	L3/ B1	T4/ B1	G4/ /B1	L4/ B1	T5/ B1	G5/ /B1	L5/ B1
2	T1/ B2	G1/ /B2	L1/ B2	T2/ B2	G2/ /B2	-	T3/ B2	G3/ /B2	L3/ B2	T4/ B2	G4/ /B2	L4/ B2	-	G5/ /B2	L5/ B2
3	T1/ B3	G1/ /B3	L1/ B3	T2/ B3	G2/ /B3	-	T3/ B3	-	L3/ B3	T4/ B3	G4/ /B3	L4/ B3	-	G5/ /B3	L5/ B3
4	T1/ B4	-	-	T2/ B4	G2/ /B4	-	T3/ B4	-	-	T4/ B4	-	-	-	G5/ /B4	L5/ B4
5	T1/ B5	-	-	T2/ B5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	T1/ B6	-	-	T2/ B6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	T1/ B7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

T: talajminta, G: gumóminta, L: levél- és szár minta; 1, 2, 3: ásothalmi minták, 4, 5: madarasi minták. Forrás: A szerzők saját szerkesztése.

### 3.2 Endofita izolálások eredményei

Összesen 34 különböző endofita gomba izolátumot, továbbá 22 endofita baktérium izolátumot tenyésztettünk ki (4-5. táblázatok).

#### 4. táblázat: Édesburgonya növényből izolált endofita gombatörzsek kódszámai.

	L1	L2	L3	SZ1	SZ2	SZ3	G1	G2	G3
1	EL1/ G1	EL2/ G1	EL3 /G1	ESZ1/ G1	ESZ2/ G1	ESZ3/ G1	-	EG2/ G1	EG3/ G1
2	EL1/ G2	EL2/ G2	EL3 /G2	ESZ1/ G2	ESZ2/ G2	ESZ3/ G2	-	-	-
3	EL1/ G3	-	EL3 /G3	ESZ1/ G3	ESZ2/ G3	ESZ3/ G3	-	-	-
4	-	-	EL3 /G4	ESZ1/ G4	ESZ2/ G4	ESZ3/ G4	-	-	-
5	-	-	EL3 /G5	-	-	ESZ3/ G5	-	-	-
6	-	-	EL3 /G6	-	-	ESZ3/ G6	-	-	-
7	-	-	EL3 /G7	-	-	ESZ3/ G7	-	-	-
8	-	-	-	-	-	ESZ3/ G8	-	-	-
9	-	-	-	-	-	ESZ3/ G9	-	-	-
10	-	-	-	-	-	ESZ3/ G10	-	-	-
11	-	-	-	-	-	ESZ3/ G11	-	-	-
12	-	-	-	-	-	ESZ3/ G12	-	-	-

SZ: szárminta, G: gumóminta, L: levélminta

Forrás: A szerzők saját szerkesztése.

#### 5. táblázat: Édesburgonya növényből izolált endofita baktériumtörzsek kódszámai.

	L1	L2	L3	SZ1	SZ2	SZ3	G1	G2	G3
1	EL1/ B1	EL2/ B1	EL3/ B1	ESZ1/ B1	ESZ2/ B1	-	EG1/ B1	EG2/ B1	EG3/ B1
2	EL1/ B2	-	EL3/ B2	-	-	-	EG1/ B2	EG2/ B2	EG3/ B2
3	EL1/ B3	-	EL3/ B3	-	-	-	-	-	EG3/ B3

(folytatás a következő oldalon)

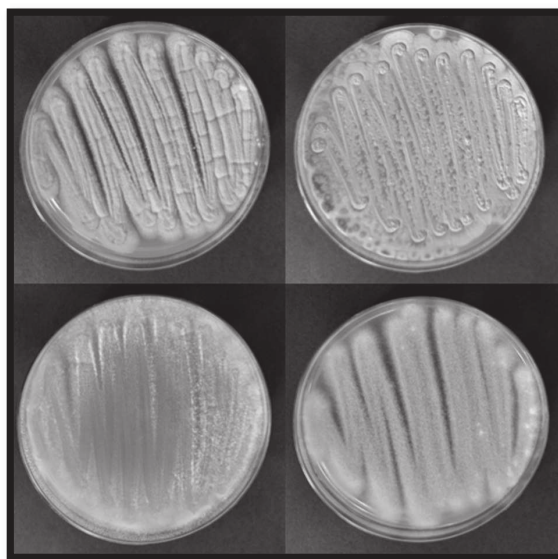
5. táblázat (folytatás): Édesburgonya növényből izolált endofita baktériumtörzsek kódszámai.

	L1	L2	L3	SZ1	SZ2	SZ3	G1	G2	G3
4	-	-	EL3/ B4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	EL3/ B5	-	-	-	-	-	-
6.	-	-	EL3/ B6	-	-	-	-	-	-
7	-	-	EL3/ B7	-	-	-	-	-	-
8	-	-	EL3/ B8	-	-	-	-	-	-
9	-	-	EL3/ B9	-	-	-	-	-	-

SZ: szárminta, G: gumóminta, L: levélminta

Forrás: A szerzők saját szerkesztése.

1. ábra: Endofita gombatörzsek tiszta tenyésztetei.



Forrás: A szerzők saját szerkesztése.

### 3.3. A fajszintű azonosítás eredményei

Tekintettel arra, hogy kutatásunk elsősorban az endofita gomba- és baktériumtörzsek szelekciójára irányul, ezért túlnyomórészt ezek közül választottunk ki a szekvencia alapján meghatározandó izolátumokat.

Endofita gombák esetében összesen 19 törzset azonosítottunk ITS szekvenciák alapján. A fajmeghatározás során többek között *Alternaria*, *Bipolaris*, *Fusarium*,

valamint *Acrocalymma* és *Macrophomina* fajokat sikerült azonosítanunk (6. táblázat).

6. táblázat: Azonosított endofita gombatörzsek.

No.	Törzs kód	Bar code	Primer	Fajnév
1.	<i>EL1/G1</i>	TS01886290	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>Alternaria alternata</i>
2.	<i>ESZ3/G4</i>	TS01886291	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>Alternaria alternata</i>
3.	<i>ESZ2//G1</i>	TS01886292	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>Alternaria alternata</i>
4.	<i>EL3/G1</i>	TS01886293	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>Alternaria alternata</i>
5.	<i>EL3/G2</i>	TS01886294	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>Epicoccum nigrum</i>
6.	<i>ESZ3/G12</i>	TS01886295	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>Bipolaris sorokiniana</i>
7.	<i>ESZ3/G5</i>	TS01886296	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>Alternaria alternata</i>
8.	<i>EL3/G5</i>	TS01886297	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>T. harzianum</i> faj komplex
9.	<i>ESZ3/G3</i>	TS01886298	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>Alternaria alternata</i>
10.	<i>EL3/G7</i>	TS01886299	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>Fusarium tricinctum</i>
11.	<i>EL3/G4</i>	TS01886300	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>Alternaria alternata</i>
12.	<i>ESZ2/G4</i>	TS01886301	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>Aspergillus oryzae</i>
13.	<i>ESZ3/G1</i>	TS01886302	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>Alternaria infectoria</i>
14.	<i>EG3/G1</i>	TS01886303	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>Acrocalymma vagum/ sp.</i>
15.	<i>ESZ1/G1</i>	TS01886304	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>Alternaria angustiovoidea</i>
16.	<i>EG2/G1</i>	TS01886305	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>Macrophomina phaseolina</i>
17.	<i>EL2/G1</i>	TS01886306	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>Alternaria alternata</i>
18.	<i>ESZ2/G2</i>	TS01886307	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>Fusarium oxysporum</i>
19.	<i>EL3/G6</i>	TS01886308	ITS1 (forward) primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	<i>Bipolaris bicolor</i>

Forrás: A szerzők saját szerkesztése.

Az endofita és epifita baktériumok közül összesen 12 izolátumot azonosítottunk a *gyrA* és *Eub* szekvenciák alapján. Ahogy a 7. számú táblázatban is látható, elsősorban *Bacillus* fajok, továbbá *Pseudomonas* és *Stenotrophomonas* fajok szerepelnek ebben a listában.

7. táblázat: Azonosított epifita és endofita baktériumtörzsek

No.	Törzs kód	Bar code	Primer	Fajnév
1.	T1/B1	TS01886478	<i>gyrA</i> (forward) 5'- CAGTCAGGAAATGCGTACGTCCTT-3'	<i>Bacillus licheniformis</i>
2.	T1/B3	TS01886479	<i>gyrA</i> (forward) 5'- CAGTCAGGAAATGCGTACGTCCTT-3'	<i>Bacillus licheniformis</i>
3.	EL3/B1	TS01886480	<i>gyrA</i> (forward) 5'- CAGTCAGGAAATGCGTACGTCCTT-3'	<i>Bacillus licheniformis</i>
4.	EG3/B2	TS01886481	<i>gyrA</i> (forward) 5'- CAGTCAGGAAATGCGTACGTCCTT-3'	<i>Bacillus licheniformis</i>
5.	EL1/B1	TS01886482	<i>gyrA</i> (forward) 5'- CAGTCAGGAAATGCGTACGTCCTT-3'	<i>Bacillus licheniformis</i>
6.	EG2/B2	TS01886483	<i>gyrA</i> (forward) 5'- CAGTCAGGAAATGCGTACGTCCTT-3'	<i>Bacillus licheniformis</i>
7.	EL2/B1	TS01886484	<i>gyrA</i> (forward) 5'- CAGTCAGGAAATGCGTACGTCCTT-3'	<i>Bacillus licheniformis</i>
8.	ESZ1/B1	TS02338077	<i>gyrA</i> (forward) 5'- CAGTCAGGAAATGCGTACGTCCTT-3'	<i>Bacillus licheniformis</i>
9.	ESZ2/B1	TS01886523	Eub 341-F (forward) (5' – CCTACGGGAGGCAGCAG – 3')	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
10.	EL1/B3	TS01886548	Eub 341-F (forward) (5' – CCTACGGGAGGCAGCAG – 3')	<i>Pseudomonas kilonensis</i>
11.	EG1/B1	TS01886549	Eub 341-F (forward) (5' – CCTACGGGAGGCAGCAG – 3')	<i>Pseudomonas lini</i>
12.	EL3/B3	TS01886546	Eub 341-F (forward) (5' – CCTACGGGAGGCAGCAG – 3')	<i>Stenotrophomonas malthophilia</i>

Forrás: A szerzők saját szerkesztése.

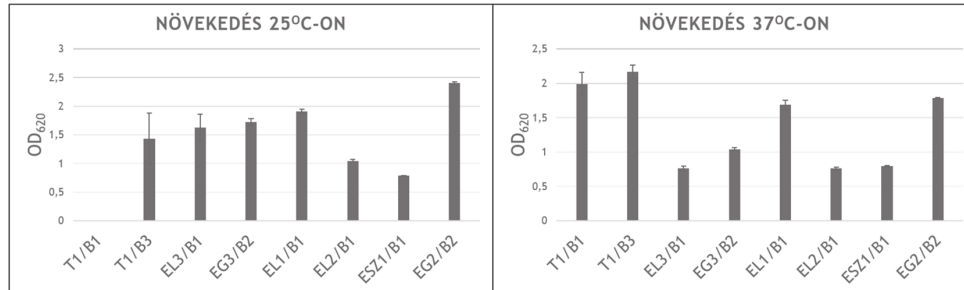
#### 3.4. Ökofiziológiai vizsgálatok eredményei

Mivel munkánk során elsődlegesen a *Bacillus* törzsek szelektálása a fő cél, ezért elvégeztük a *Bacillus licheniformis*-ként azonosított törzsek általános ökofiziológiai vizsgálatait.

A törzsek hőmérséklet optimumát vizsgálva megállapítottuk, hogy a *B. licheniformis* törzseink általában mind 25 °C-on, mind 37 °C-on képesek voltak növekedni. Ugyanakkor jól látható, hogy 25 °C-on az T1/B1 törzs egyáltalán nem növekedett, míg a legjobban az EG2/B2 törzs tudott növekedni.

Megfigyelhető, hogy 37 °C-on a T1/B1 és T1/B3 törzsek mutatták a legintenzívebb növekedést, míg ezen a hőmérsékleten az EL3/B1, EL2/B1 és ESZ1/B1 törzsek viszonylag gyengén tudtak növekedni (2. ábra).

2. ábra: A vizsgált *B. licheniformis* törzsek hőmérséklet függése.

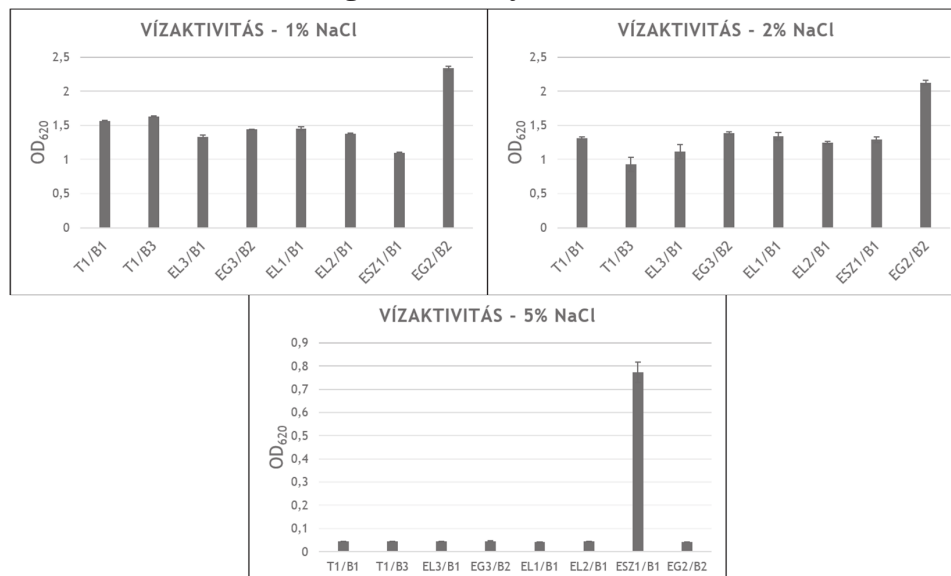


Forrás: A szerzők saját szerkesztése.

A *B. licheniformis* törzsek sótűrését (vízaktivitás hatását) vizsgálva elmondható, hogy a törzsek növekedése 1 és 2% NaCl jelenlétében nem tért el lényegesen egymástól, kivéve az EG2/B2 törzst, amely mindkét koncentrációnál kiemelkedő növekedést mutatott.

Elmondható továbbá, hogy 5% NaCl jelenlétében a *B. licheniformis* törzsek már alig mutattak növekedést. Kivétel ez alól az ESZ1/B1 törzs, amely még ennél a sókoncentrációnál is viszonylag intenzív növekedést mutatott (3. ábra).

3. ábra: A vizsgált *B. licheniformis* törzsek sótűrése.



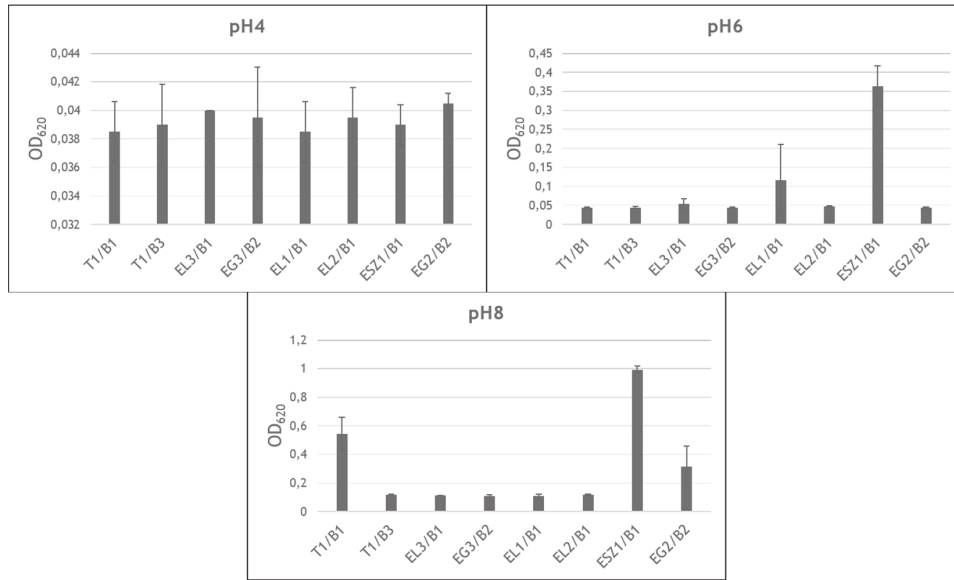
Forrás: A szerzők saját szerkesztése.

A *B. licheniformis* törzsek pH optimumát vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy 4-es pH értéken a törzseket viszonylag egységes növekedés jellemezte.

Ezzel szemben 6-os, illetve 8-as pH értékeken már jelentős eltérést tapasztaltunk az egyes törzsek között. Jól látható, hogy az ESZ1/B1 baktériumtörzs mutatta

mindkét említett pH értéken a legkiemelkedőbb értékeket. Fontos megjegyezni továbbá, hogy a T1/B1 és EG2/B2 törzsek 8-as pH értéken szintén intenzív növekedést mutattak (4. ábra).

4. ábra: A vizsgált *B. licheniformis* törzsek pH optimuma.

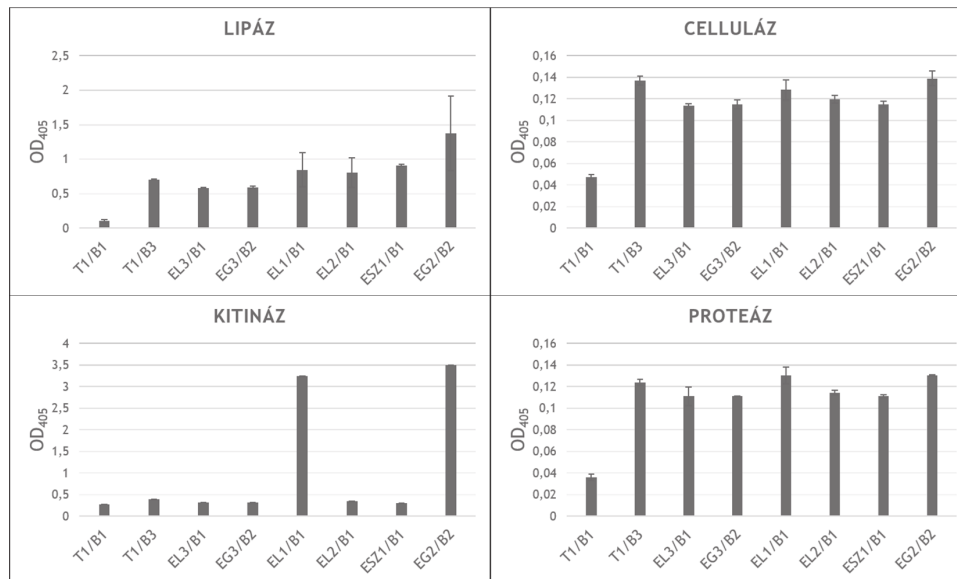


Forrás: A szerzők saját szerkesztése.

A négy vizsgált extracelluláris enzim aktivitásainak adatai az 5. ábrán láthatók összefoglalva. Elmondható, hogy a celluláz és a proteáz enzimek aktivitásai mind a 8 vizsgált *B. licheniformis* törzsből viszonylag egységesek voltak, kivéve a T1/B1 törzset, amely mindkét enzim esetében gyengébben teljesített. Megfigyelhető, hogy a lipáz enzim aktivitása az EG2/B2 törzsből volt a legkiemelkedőbb, a T1/B1 törzsből pedig a legalacsonyabb. A kitináz enzimét illetően elmondható, hogy az enzim aktivitása az EL1/B1 és EG2/B2 törzsekben volt a legmagasabb, a többi törzs esetében nem, vagy csak nagyon alacsony aktivitást tapasztaltunk.



5. ábra: A *B. licheniformis* törzsek által termelt extracelluláris enzimek aktivitásai.



Forrás: A szerzők saját szerkesztése.

#### 4. Eredmények értékelése

Kísérletes kutatómunkánk során Magyarországon elsőként hoztunk létre hazai édesburgonya ültetvényekről származó mikrobiológiai törzsgyűjteményt. A több, mint 150 izolátumból álló gyűjteményből eddig közel 50 gomba- és baktériumtörzs fajszintű azonosítására került sor, továbbá elvégeztük 8 *B. licheniformis* törzs széleskörű ökofiziológiai vizsgálatait is.

Vizsgálataink során több olyan baktériumtörzset sikerült azonosítanunk és jellemeznünk, amelyek a későbbiekben alapját képezhetik az általunk létrehozni kívánt lombkezelő készítménynek. Ezek az eredmények jól megalapozzák a tervezett további, a mezőgazdaságot közvetlenül szolgáló kísérletek alapját is.

#### 5. Jövőbeli terveink

Terveink között szerepel a közeljövőben a *B. licheniformis* törzsek vizsgálata *in vitro* konfrontációs tesztekben, különös tekintettel az édesburgonya kórokozóra.

A kutatás későbbi fázisában a legkiemelkedőbb tulajdonságokkal bíró törzsekkel széles spektrumban szeretnénk csírázási tesztek végezni, az esetleges negatív hatások kizárása céljából.

Célunk az általunk létrehozott édesburgonyáról származó mikrobiológiai törzsgyűjtemény folyamatos bővítése további minták feldolgozásával.

Távlati célkitűzésünk, az általunk izolált kiváló biokontroll képességekkel rendelkező gomba- és baktériumtörzsek felhasználásával egy magas depszipeptid

tartalmú, kitozán nanorészecskékkel stabilizált lombkezelő készítmény kifejlesztése, amelyet szeretnénk üvegházi és szántóföldi teszteknek is alávetni.

### Köszönetnyilvánítás

A kézirat az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-21-3-SZTE-383 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.



### Irodalomjegyzék

- Bacon, C.W., White, J.F., (2016): Functions, mechanisms and regulation of endophytic and epiphytic microbial communities of plants. *Symbiosis*, 68: 87–98.
- Cantoro, R., Palazzini, J.M., Yerkovich, N., Miralles, D.J., Chulze, S.N. (2020): *Bacillus velezensis* RC 218 as a biocontrol agent against *Fusarium graminearum*: effect on penetration, growth and TRI5 expression in wheat spikes. *BioControl*, 66: 259–270.
- Favaro, G., Bogialli, S., Di Gangi, I.M., Nigris, S., Baldan, E., Squartini, A., Pastore, P., Baldan, B. (2016): Characterization of lipopeptides produced by *Bacillus licheniformis* using liquid chromatography with accurate tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 30: 2237–52.
- Ghazanfar, M.U., Raza, M., Raza, W., Qamar, M.I. (2018): *Trichoderma* as potential biocontrol agent, its exploitation in agriculture: a review. *Plant Protection*, 2: 23–41.
- Muyzer, G., De Wall, E.C., Uitterlinden, A.G. (1993): Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 59: 695–700.
- Ongena, M., Jacques, P. (2008): *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends in Microbiology*, 16: 115–125.
- Porras-Alfaro, A., Bayman, P. (2011): Hidden fungi, emergent properties: Endophytes and microbiomes. *Annual Review of Phytopathology*, 49: 291–315.
- Raymaekers, K., Ponet, L., Holtappels, D., Berckmans, B., Cammue, B.P.A. (2020): Screening for novel biocontrol agents applicable in plant disease management—a review. *Biological Control*, 104:240
- Reva, O.N., Dixelius, C., Meijer, J., Priest, F.G. (2004): Taxonomic characterization and plant colonizing abilities of some bacteria related to *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus subtilis*. *FEMS Microbiology Ecology*, 48: 249–259.
- Sajben-Nagy E.I. (2011): Laskagomba-patógén *Pseudomonas* törzsek vizsgálata és az ellenük történő biológiai védekezés lehetőségeinek felmérése. PhD-értekezés, Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar, Mikrobiológiai Tanszék.
- Turbat, A., Rakk, D., Vigneshwari, A., Kocsubé, S., Thu, H., Szepesi, Á., Bakacsy, L., Škrbić B, D., Jigjiddorj, E.A., Vágvölgyi, C., Szekeres, A. (2020): Characterization of the plant growth-promoting activities of endophytic fungi isolated from *Sophora flavescens*. *Microorganisms*, 8 (5): 683.
- Vigneshwari, A.; Rakk, D.; Németh, A.; Kocsubé, S.; Kiss, N.; Csupor, D.; Papp, T.; Škrbić, B.; Vágvölgyi, C.; Szekeres, A. (2019): Host metabolite producing endophytic fungi isolated from *Hypericum perforatum*. *PLoS ONE*, 14, e0217060
- White, T.J., Bruns, T.D., Lee, S.B., Taylor, J.W. (1990): Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for Phylogenics. *PCR Protocols, a Guide to Methods and Applications*, Academic Press. 315–322.