

A GYÖKÉRRONTÓ TAPLÓ (*HETEROBASIDION ANNOSUM*) ELLEN ALKALMAZOTT BIOLÓGIAI VÉDEKEZÉSI TECHNOLÓGIA ERDEIFENYŐ ÁLLOMÁNYOKBAN

Koltay András¹, Lakatos Tamás², Tóth Tímea² és André Zoltán³

¹Erdészeti Tudományos Intézet, Erdővédelmi Osztály,

²Nemaform Kutató és Szolgáltató Kft.

³NEFAG Zrt., Monori Erdészet

Kivonat

Az erdei ökoszisztémákban kiemelten nagy jelentőségük van a szelektív és biológiai védekezési technológiáknak. Ilyen lehetőség az erdészetben a különféle kórokozók ellen felhasznált antagonistá gombafajok vagy más mikroorganizmusok alkalmazása. A hazai fenyvesek egyik legveszélyesebb kórokozója, a gyökérrontó tapló (*Heterobasidion annosum*) ellen korábban már Pagony Hubert alkalmazott hatékony biológiai védekezést erdeifenyő (*Pinus sylvestris*) állományokban. Ezek a kutatási eredmények azonban feledésbe merültek, de a probléma továbbra is jelen van fenyveseinkben. Az elmúlt évek során az óriás terülőgomba (*Phlebiopsis gigantea*) felhasználásával ezt az eljárást újra kifejlesztettük, a mai követelményekhez igazítottuk, és létrehoztuk a nagyüzemi felhasználásra is alkalmas oltóanyagot. Az eddigi vizsgálatok eredményei egyértelműen bizonyították, hogy a hazai erdeifenyő-állományokban ez az eljárás új távlatokat nyithat meg a gyökérrontó tapló elleni védekezésekben.

Kulcsszavak: erdeifenyő, biológiai védekezés, gyökérrontó tapló, *Heterobasidion annosum*, *Phlebiopsis gigantea*, *Pinus sylvestris*

BIOLOGICAL CONTROL TECHNOLOGY AGAINST *HETEROBASIDION ANNOSUM* ROOT ROT IN SCOTS PINE STANDS

Abstract

In forest-ecosystems it is very important to apply selective and biological control technologies against pests and pathogens. Such method in forestry is the usage of antagonistic fungi or other micro-organisms. One of the most dangerous pathogens of conifers in Hungary is the *Heterobasidion annosum* root rot. Formerly Hubert Pagony applied successfully a biological control agent against it in Scots pine (*Pinus sylvestris*) stands. However, these research achievements fell into oblivion, although the pathogen is still present in our forests. In the past few years we re-developed this method, by the usage of *Phlebiopsis gigantea*



and rearranged it according to present-day requirements. We were able to produce an inoculum, which is suitable for industrial-scale usage and manufacturing. Our experiments so far evidently claimed that this method can open new perspectives in root rot control in Scots pine forests.

Keywords: Scots pine, biological control, root rot, *Heterobasidion annosum*, *Phlebiopsis gigantea*, *Pinus sylvestris*

BEVEZETÉS

Az erdővédelmi eljárásokban, az utóbbi évek szemléletváltozása nyomán, elsődleges szemponttá vált az integrált növényvédelem. Ennek során olyan védekezési technológiákat keresünk és alkalmazunk, amelyekkel a legkisebb változást idézzük elő a környezetben, ugyanakkor a veszélyesnek ítélt károsítók, kórokozók populációméretét a gazdaságilag még elfogadható szintre tudjuk csökkenteni. Ez különösen nehéz az erdei ökoszisztémákban, ahol a különböző élőlények populációi közötti bonyolult kölcsönhatások tartják egyensúlyban a rendszert. Itt kiemelten nagy jelentőségük van a szelektív vagy biológiai védekezési technológiáknak.

Ilyen növényvédelmi technológia a kórokozók ellen alkalmazott antagonista gombafajok vagy más mikroorganizmusok alkalmazása. A megfelelően kiválasztott organizmusok csak az adott károsítót, illetve kórokozót gátolják, míg a többi élőlényre nézve semleges hatásúak (Campbel 1989). Az antagonista gombafajokkal hatékonyan csökkenthető egyes kórokozók megtelepedése és az általuk okozott károk mértéke a gazdanövényeken, így a fenyőkön is (Cook és Rayner 1984; Renvall 1995, Nicoletti 2005). Ezt az alap gondolatot felhasználva végeztünk fejlesztési kísérleteket a hazai fenyvesek egyik legveszélyesebb kórokozója, a gyökérrontó tapló *Heterobasidion (Fomes) annosum* Fr.(Bref) ellen az óriás területgomba *Phlebiopsis (Peniophora) gigantea* /Fr./Jülich alkalmazásával.

Az alap gondolat nem új, külföldi kutatók régen is kutatták, és jelenleg is vizsgálják a kérdést a hatékony védekezési eljárások kialakítása érdekében (Risbeth 1963, 1979; Kallio 1979; Froelich és mtsai 1977; Annesi és mtsai 2005; Tubby és mtsai 2008). Ezek a vizsgálatok azonban hazánktól jelentősen eltérő ökológiai viszonyok között folynak, így a kifejlesztett technológiák a hazai körülmények között nem elég hatékonyak, ennek megfelelően közvetlen adaptálásuk nem eredményes. Így például a Nagy-Britanniában és Finnországban alkalmazott eljárás a jóval hűvösebb és csapadékosabb klímán működik elfogadhatóan, viszont ennek direkt alkalmazása Magyarországon nem hozott megfelelő eredményeket (Pagony 1981). Korábban, az 1980-as évek elején Pagony Hubert kutatásai nyomán hazai izolálású antagonista gombák felhasználásával születtek eredmények (Pagony 1985). Ezek azonban feledésbe merültek, mivel az oltóanyag előállítás a rendszerváltás során megszűnt, és az alkalmazásához nyújtott támogatás jogi háttere is megváltozott. Ugyanakkor a fenyvesekben továbbra is jelentős problémát jelent a tapló kártétele, ami arra késztetett minket, hogy újra létrehozzuk ezt a mai elvárásoknak is messzemenően megfelelő környezetbarát védekezési technológiát.

A gyökérrontó tapló az erdei- és a feketefenyő esetében a szíjácstól támadja, és ezzel gyors pusztulást idéz elő, míg a többi fenyőnél a gesztben telepedik meg, így elsősorban a legértékesebb vastag faanyag műszaki károsításával, illetve gyengítésével idéz elő szintén nem elhanya-

golható károkat. Mivel a tapló spórái elsősorban a friss tuskók vágáslapján keresztül fertőznek, a nevelővágásokat követően jelentősen nő a gyökérrontótapló-fertőzés veszélye. Ennek megelőzésre alkalmas a *P. gigantea* antagonista gomba spóraszuszpenziója, amellyel a nevelővágásokkal egyidejűleg kezelni lehet a tuskókat, megakadályozva a tapló fertőzését.

Magyarország összes erdőterületének 12,6%-át (225784 ha) fenyőerdők teszik ki. Ebből erdeifenyő 7,4% (132243 ha), feketefenyő 3,7% (67167 ha), lucfenyő 1,1% (20022 ha) és 0,3% (6352 ha) egyéb fenyő, tehát még jelenleg is nagy területeket foglalnak el fenyveseink (MgSZH 2008).

Mivel hazánkban az erdei- és feketefenyő van túlnyomó többségben, ezek védelme igen komoly feladatot jelent. Az ERTI Erdővédelmi Osztályának korábbi vizsgálatai szerint a fenyvesek 20-30 százalékában jelen van a kórokozó, és a megtámadott állományokban a fertőzés mértéke eléri a 20-40%-ot. A hazai fenyvesek tervezett véghasználati kora 70-80 év, amely a gyökérrontó tapló elterjedése következtében 30-40 évre csökken, és így jelentős veszteséget okoz a gazdálkodók számára (Pagony 1983, Tóth 1986).

Ha figyelembe vesszük, hogy az erdei- és feketefenyő élőfakészlete 30-40 éves korban, közepes fatermési csoportot tekintve, átlagosan 200-220 m³, amely a tapló támadása miatt átlagosan 160-180 m³-re csökken, és összevetjük a várt 70-80 éves állományok élőfakészletével, amely 320-350 m³, akkor a különbség (azaz a csökkenés) a valós és tervezett értékek között hektáronként 140-160 m³. Mindezek csak a m³-ben mérhető veszteségek, ugyanakkor jelentősen növeli a károkat, hogy a tervezettnél korábban kivágott fák felhasználhatósága, műszaki paraméterei is jelentősen csökkennek, és így a sokkal jövedelmezőbb ipariválaszték-kihozatal szinte lehetetlenné válik. A fakészletvesztés mellett a letermelt állomány felújítási költsége is jelentős anyagi kárt jelent a gazdálkodóknak, mivel a károsodott állományból származó árbevétel többnyire nem fedezi a felújítás költségeit. Ezeket a veszteségeket jelentősen csökkenthetjük az antagonista gomba felhasználásán alapuló biológiai védekezési technológia alkalmazásával, mivel ennek segítségével növelhető a vágásérettségi kor és az ezzel összefüggő valamennyi gazdasági paraméter.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Az eljáráshoz szükséges megfelelő oltóanyag előállításának első lépése volt a hazai fenyvesekben természetes módon előforduló gombafajok termőtesteinek begyűjtése, és a termőtestekből izolátumok és törzstenyészetek előállítása a további vizsgálatokhoz.

A gyűjtéseket 2009 nyarán végeztük a konzorciumi erdőgazdaságok erdeifenyő-állományában. (Kezdetben a Nyírerdő Zrt. és a Nagykunsági Erdészeti Zrt. vett részt a munkában, de később technikai okok miatt a Nyírerdő Zrt. kilépett a konzorciumból.) A *Heterobasidion annosum* és *Phlebiopsis gigantea* termőtesteket különféle korú, gyökérrontó taplóval fertőzött fenyvesekben gyűjtöttük. Összesen 25 erdőrészletből sikerült termőtesteket gyűjteni. A begyűjtött minták erdőrészlet szintű adatait, GPS koordinátáit egyaránt rögzítettük. A laboratóriumi munkák során a Monori Erdészet területéről származó termőtestekből 4, a Nyírerdő fenyveseiből 12 *H. annosum* törzset sikerült izolálni. Egy termőtest lucfenyőtuskóról, míg a többi erdeifenyő-tuskóról származott. A *P. gigantea* gombából összesen 4 új törzstenyészetet tudtunk létrehozni, mivel a kérdéses

időszakban csak igen kevés termőtestet találtunk. A termőtestek mindegyike kidőlt erdeifenyő-törzsről származott.

A területbejárások során a már korábban elhalt fák gyökfőjében a felszín közelében vagy az avartakaróval fedett gyökfőben lehet a gyökérrontó tapló jellegzetes vöröses szegélyű, piszkosfehér termőrétegű termőtesteit begyűjteni (1. ábra). A termőtesteket laboratóriumban, nedves kamrában steril tárgylemezre helyeztük, majd 24 órát hagytuk sporulálni. A tárgylemezről a spórákat petricsészében, szélesztéses módszerrel vittük fel a gomba tenyésztésére általánosan használt 1%-os Difco maláta kivonatot tartalmazó 1,5%-os agar táptalajra. Az így nyert heterokarióta tenyészeteket használtuk a további vizsgálatokhoz.

A *Heterobasidium annosum*nak több biotípusa létezik. Korhonen (1978) kutatásai szerint ezek a biotípusok rendszerint különböző fenyőféléken fordulnak elő. A „P” csoport elsősorban *Pinus*okon, míg az „S” csoport főleg lucfenyőn (*Spruce*) található (Korhonen és mtsai 1998). Később Olaszországban azonosítottak egy harmadik „F” jelzésű csoportot, amely jegenyefenyőn jellemző (Capretti és mtsai 1990). Magyarországon mindhárom biotípust sikerült kimutatni, de a „P” típust csak *Pinus* fajokról, míg lucfenyőn a „P” és „S” típust, jegenyefenyőn az „S” és „F” típust (Pagony és Szántó 1995). Az általunk begyűjtött heterokarióta *Heterobasidium annosum* törzset Pagony és Szántó (1995) módszere szerint vizsgáltuk, és megállapítottuk, hogy valamennyi tenyészetünk a „P” biotípusba tartozik.



1. ábra: *Heterobasidium annosum* termőtest erdeifenyő gyökfőjében
Figure 1: Fruiting body of *Heterobasidium annosum* on root swelling of Scots pine

Az óriás terülőgomba, *Phlebiopsis gigantea* termőtestei elsősorban kidőlt, elhalt faanyagon gyűjthetők. A *P. gigantea* termőtestekből ugyancsak szélesztéses módszerrel készítettünk törzstenyészeteket. A tenyészeteket 24 °C-on tároltuk, de a hosszabb idejű megőrzésre desztillált vizet eprűvattákba tenyészetkorongokat helyeztünk, melyet hűtőszekrényben tárolunk 4-5 °C-on. Ebben a formában a tenyészetek több évig életképesek maradnak. A további vizsgálatokhoz az általunk begyűjtött 4 gombatorzs mellett az ERTI törzsgyűjteményében lévő *P. gigantea* tenyészetek közül két törzset is felhasználtunk. (A törzstenyészeteket 15.N számmal jelöltük.)

A kutatások következő lépéseként antagonista vizsgálatokat végeztünk. Ennek során felmértük, hogy a vizsgálatba bevont hat *P. gigantea* gombatörzs antagonista hatása milyen mértékű a *H. annosum* tenyészetekkel szemben. Az antagonista hatás mértékét petricsészés konfrontációs módszerrel vizsgáltuk (Kallio 1979; Korhonen 1998). Ennek során a két gomba tenyészeiből 5 mm átmérőjű agar korongokat helyeztünk egymástól 3 cm távolságra, majd háromheti inkubáció után vizsgáltuk a konfrontációs zóna jellegzetességeit, nevezetesen: milyen mértékben volt képes ránőni az egyik gomba micéliuma a másikra (2. ábra). A kísérletek során hat *P. gigantea* gombatörzset vizsgáltunk (négy begyűjtöttet és kettőt a törzsarchívumból). *H. annosum* tenyészetek közül szintén hat törzset vontunk be a vizsgálatokba, mégpedig az előzetes vizsgálatok során kiválasztott legjobb növekedésűeket. Valamennyi *P. gigantea* gombatörzset összeoltottuk valamennyi *H. annosum* tenyészettel, háromszoros ismétlésben. A háromheti inkubációt követően lemértük mindkét gomba *micéliumnövekedését* az ellentétes korong irányába. A növekedés mértéke alapján határoztuk meg az egyes *P. gigantea* törzsek antagonista hatását. A további vizsgálatokhoz azokat az ígéretes *P. gigantea* törzseket választottuk, amelyek az inkubálást követően legerőteljesebben ránőttek a *Heterobasidion annosum* micéliumaira, megakadályozva annak további növekedését. A tapasztalatok szerint ugyanis ezek mutatják a legerősebb antagonista hatást a gyökérrontó taplóval szemben, és így alkalmasak a további vizsgálatokhoz, tömegszaporításhoz.



2. ábra: *H. annosum* és *P. gigantea* kompetíciós vizsgálata során jellegzetes konfrontációs zónák alakulnak ki
Figure 2: Typical confrontational zones in the *H. annosum* — *P. gigantea* competition experiment

Következő lépésként öt kiválasztott *Phlebiopsis* törzstenyészettel tömegszaporítási kísérleteket állítottunk be. Az izolátumokat folyadékfázisú bioreaktorban szaporítottuk fel. A tömeges oltóanyag előállítását BR021 típusú (INEL Kft.), belső fordítóhengeres laboratóriumi bioreaktorban végeztük.

A továbbiakban fő feladatunk volt a laboratóriumban tesztelt oltóanyag szabadföldi alkalmazási technológiájának kidolgozása, valamint a kiválasztott *P. gigantea* törzsek megeredési erélyének, hatékonyságának vizsgálata a friss tuskókon. A gyakorlati alkalmazáshoz elenged-



hetetlenül szükséges volt tisztázni a kijuttatandó oltóanyag optimális mennyiségét, továbbá a gyakorlati alkalmazás számára legmegfelelőbb kijuttatási technológiát.

A kísérleti oltóanyaggal az előzetes szabadföldi vizsgálatokat 2009 októberében kezdtük meg. A Monori Erdészet területén lévő Csévharaszt 109/D, 28 éves erdeifenyő-állományban szabadföldi tuskókezelési kísérletet állítottunk be, három (15.24; 15.31; 15.33 jelű), a tömegszaporítás során legalkalmasabbnak tűnő *P. gigantea* törzssel. Mindhárom törzs esetén három különböző inokulumsűrűséget használtunk: 1 000, 10 000 ill. 100 000 CFU/ml (jelölésük a továbbiakban 10^3 , 10^4 ill. 10^5 CFU/ml). A kezelések során 10-10 db frissen kivágott fa tuskóját kezeltük, valamennyi változat esetében 10 ml oltóanyagot kijuttatva egy-egy tuskóra. A tuskókra juttatott oltóanyag megeredési vizsgálatát 6 hónappal később, 2010 áprilisában végeztük korongvágásos módszerrel. Ebben az esetben valamennyi beoltott tuskóról mintakorongot vágunk.

2010. május 6-án a Monori Erdészet területén lévő Csévharaszt 109/D, 28 éves erdeifenyő-állományban (a korábbi kisparcellás kísérletbe bevont erdőrészletben) az erdészet elvégezte a teljes állományban az üzemtervben előírt növedékfokozó gyérítést. Ezt követően, másnap végrehajtottuk a friss tuskók kezelését az egész erdőrészletben, ami a korábban kezelt részek nélkül mintegy 2 ha területet jelentett. A kísérleti kezeléshez a korábban is alkalmazott három *P. gigantea* törzset használtuk, de az oltóanyag spóraszámát mindhárom törzs esetében 10^4 CFU/ml töménységű volt. Az oltóanyagot háti permetezővel juttattuk ki, tuskónként körülbelül 10 ml inokulummal. A kezelések során mindhárom *P. gigantea* törzs esetében átlagosan 1000 db tuskót kezeltünk.

Az oltóanyag megeredésének és hatékonyságának vizsgálata hat hónappal később, ismételen korongvágásos módszerrel történt. Valamennyi kezelési változathoz 25-25 db mintakorongot vágunk véletlenszerűen kiválasztva a tuskókat az állományban. A korongokat a laboratóriumban 5 perces áztatás után papírzacskóba majd műanyag zsákba helyeztük, és így inkubáltuk 2 hétig. Ezt követően mikroszkópos vizsgálattal megállapítottuk a beoltott gomba megeredési intenzitását és borítási %-át a korongokon.

Az általános állománykezelési kísérleteket kiegészítettük az idősebb állományokban kialakult fertőzött foltok szegélyeinek kezelésével. Két *H. annosum* által fertőzött foltban elvégeztük a foltszegélyek kezelését is. Ennek során az elhalt fákat határoló egészséges egyedeket két fasszélességben kivágtuk, és a tuskókat *P. gigantea* szuszpenzióval kezeltük. Mivel a kórokozó a gyökereken keresztül fertőzi a még egészséges fákat, reményeink szerint ezzel a kezeléssel a foltok további növekedése, azaz a tapló terjedése gátolható. A későbbi vizsgálatokhoz a szegélyeken álló egészséges fákat megjelöltük, így lehetőség nyílik a pusztuló foltot övező egészséges fák utólagos azonosítására.

EREDMÉNYEK

Az oltóanyag előállítás

A *P. gigantea* és a *H. annosum* törzstenyészetekkel végzett petricsészés konfrontációs vizsgálati eredmények igazolták, hogy a kísérletbe bevont *P. gigantea* gombatörzsek a vizsgált „P”

biotípusú *H. annosum* törzsekre nézve antagonista hatást gyakorolnak, így alkalmasak lehetnek a biológiai védekezési eljárásához.

A konfrontációs vizsgálatok során az öt legerőteljesebben növekedő *P. gigantea* törzset választottunk ki. Az így kiválasztott törzsekkel kezdtük meg a tömegszaporítási vizsgálatokat. Ennek eredményeként három törzset szelektáltunk, amelyek leginkább megfeleltek a tömegszaporítás céljára. Ezt követően kezdtük meg ezzel a három gombatörzssel a tömeges oltóanyag előállítását. A *P. gigantea* előállítása szilárd fázisú fermentációval jól megoldható (Virtanen és mtsai 2008), ugyanakkor a módszer ipari alkalmazhatóságát korlátozza, hogy a léptéknövelés nehézkes, nem automatizálható, ill. a léptéknövelés után az inokulum-kihozatal egységnyi szubsztrátra vonatkoztatva jelentősen csökken (Swanwick 2007). Éppen ezért vizsgálataink során folyadékfázisú előállítási módszert alkalmaztunk, mivel a folyadékfázisú bioreaktorok automatizálása és a folyamatok léptéknövelése jobban megoldható.

A *P. gigantea* izolátumok folyadékfázisú szaporíthatóságának két kritériuma volt. Egyrészt a gomba növekedése kellően intenzív-e, viszonylag rövid idő alatt megindul-e a spórázás, vagy kialakulnak-e olyan hifaelfűződések, amelyek propagulumként szolgálhatnak. Másrészt a gomba növekedése megfelel-e a folyadékfázisú fermentorok követelményeinek. Ebből a szempontból a laza fonalas vagy az erősen tömörödő növekedési formák a berendezések mozgó alkatrészeinek akadályozása miatt nem előnyösek.

A vizsgált izolátumok már agarlemezen is igen eltérő növekedési képet mutattak, s rázatott lombikban is különbözőek voltak. Egyes esetekben erősen tömörödő gombócok alakultak ki, más esetekben szabályos apró gyöngyszerű képletek voltak megfigyelhetők, illetve előfordultak olyan izolátumok, amelyeknél a gyöngyszerű képletek lazák voltak, a fermentfolyadék pedig zavarosodó. Mikroszkópos vizsgálattal az első típusnál a fermentfolyadékban csak néhány letöredező hifadarabot lehetett találni, a második csoportba tartozónál valamivel több ilyen hifaág volt megfigyelhető, míg a harmadik típusú izolátumoknál rendkívül sok lefűződő hifafragmentum mellett spórák is előfordultak, esetenként igen nagy mennyiségben. Nyilvánvaló, hogy az ipari léptékű előállítás szempontjából ez utóbbi csoport a leginkább kedvező. Ebbe a csoportba három gombatörzs tartozott, így a további kísérletekbe ezeket a törzseket vontuk be.

A bioreaktorban végzett tenyésztési kísérletekben a kiválasztott gombatörzsek növekedése rendkívül gyorsnak bizonyult, 96 óra múltán a hifatömeg csaknem teljesen meggátolta a folyadék áramlását a fermentortestben. Egyik izolátum sem sporulált az adott körülmények között, de a fermentlében rendkívül sok lefűződött hifadarabkát lehetett találni. A fermentlé inokulumkoncentrációja jellemzően a 10^6 CFU/ml tartományban volt. A folyamat végére max. 2 mm átmérőjű pellettömeget kaptunk, amelynek roncsolásával $5,5 \times 10^5$ – $6,5 \times 10^6$ CFU/ml homogenizátumot állítottunk elő. A hígítatlan fermentlével 4 C° -on végzett tárolási kísérlet eredménye szerint a CFU érték a fermentálást követő 4 hónap során sem csökkent érdemben, így az előállítás és felhasználás között az oltóanyag biztonságosan tárolható.

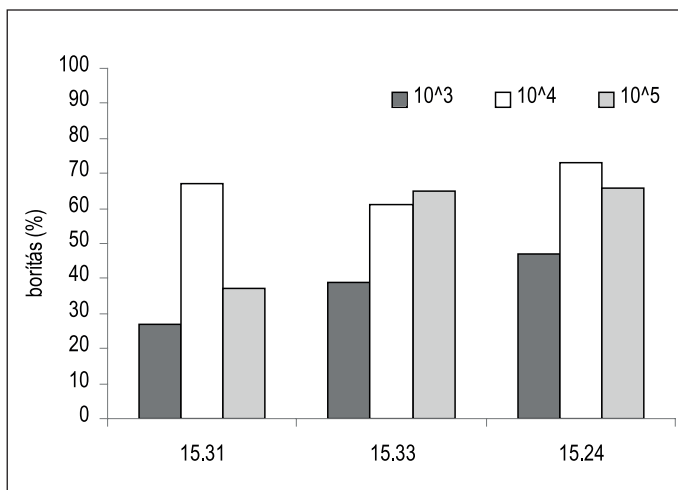
A nagyüzemi felhasználást segítő az oltóanyagot folyékony ételfesték (6 ml/liter Maxcolor 'Málnapiros', Szilas Kft., színyanyag: azorubin) felhasználásával színeztük. Ennek eredményeként az eredetileg szintelen oltóanyag tetszőleges intenzív színűre festhető, így a kezelések során egyértelműen elkülöníthető a kezelt és kezeletlen tuskó. Ezzel hatékonyabbá és egyben ellenőrizhetővé válik az oltóanyag kijuttatása.

Szabadföldi kezelések

Az első, előzetes szabadföldi vizsgálatokat 2009 októberében kezdtük. Ekkor három *P. gigantea* izolátum különböző töménységűre beállított spóraszuszpenzióját alkalmaztuk, 10 ml oltóanyagot kijuttatva egy-egy tuskóra. A tuskókra juttatott oltóanyag megeredési vizsgálatát hat hónappal később, 2010 áprilisában végeztük korongvágásos módszerrel. A megeredési és kolonizációs vizsgálatok elvégzéséhez az oltást követően 3-6 hónap szükséges, mivel a gombának a tuskó megfelelő mértékű átszövéséhez minimálisan ennyi időre van szüksége.



3-4. ábra: A *P. gigantea* hifái kéthetes inkubálást követően megjelennek a mintakorongokon
Figure 3-4: Hyphae of *P. gigantea* appear after two weeks incubation



5. ábra: A kísérleti kezelésekben az eltérő *P. gigantea* izolátumok (15.31; 15.33; 15.24) különböző koncentrációjú inokulumával kezelt tuskók vágáslapján a gomba átlagos borítási értékei (n=5)
Jelölések: 10³=10³ CFU/ml, 10⁴=10⁴ CFU/ml, 10⁵=10⁵ CFU/ml

Figure 5: Average coverage of fungi (15.31; 15.33; 15.24) on the surface of experimental stumps, after treatment with inoculi of different concentrations of different *P. gigantea* isolates (n=5).
Labels: 10³=10³ CFU/ml, 10⁴=10⁴ CFU/ml, 10⁵=10⁵ CFU/ml

A mintakorongok vizsgálatának laboratóriumi eredményei azt mutatták, hogy mindhárom, a szabadföldi kísérletbe bevont *P. gigantea* törzs 100%-os megeredésű, azaz hatékonyan megtelepedett a tuskókon (3-4. ábra).

E mellett valamennyi gombatörzs esetében elegendőnek bizonyult mindhárom töménység a *P. gigantea* sikeres inokulációjához. A különböző koncentrációjú inokulumoknál a gomba borítási értéke eltérő volt ugyan, de nem minden izolátum esetén, ill. nem mindig következetesen (5. ábra).

Ez azt is jelenti, hogy a legalacsonyabb töménységű inokulumszuszpenzió is megfelelő lehet a kívánt növényvédelmi hatás eléréséhez, de legalábbis nem indokolható 10^4 CFU/ml-nél nagyobb töménység alkalmazása. Ez a potenciális készítmény területegységre jutó költsége szempontjából kiemelt jelentőségű.



6. ábra: Kedvező, csapadékos időjárás esetén az oltást követő 3-6 hónapban megjelennek a *P. gigantea* termőteste a beoltott tuskókon

Figure 6: In case of favourable wet weather fruiting body of *P. gigantea* appears on inoculated stumps after 3-6 months of inoculation

Az üzemi jellegű kezeléseket erdefenyő-állományban 2010 májusában végeztük, aminek során ismételten ugyanazt a három gombatörzset alkalmaztuk (15.31; 15.33; 15.24), valamennyit 10^4 CFU/ml töménységre beállítva. A korongvágásos, laboratóriumi vizsgálatok mellett a kezelt állományokban a területbejárás során a beoltott tuskókat is megvizsgáltuk. Megfelelő csapadékos időjárás esetén ugyanis a beoltott tuskók felületén megjelenik a *P. gigantea* jellegzetes, viaszos, szürkésfehér szétterülő termőteste (6. ábra).

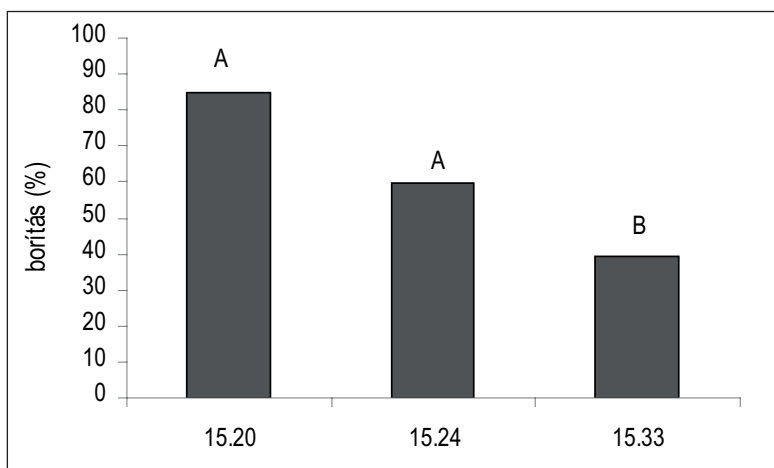
Ennek alapján már a helyszínen egyértelműen meghatározható volt az oltások eredményessége, mivel a beoltott tuskók 37%-án találtunk termőtestet. E mellett azonban a korongvágásos, laboratóriumi precíz eredményességi vizsgálatokat is elvégeztük, mert csak ezek adhatnak egyértelmű eredményeket a megeredésre vonatkozóan, mivel nem minden esetben és nem minden tuskón jelennek meg markánsan a termőtestek. Kedvezőtlen csapadékszegény időszakban egyáltalán nem fejlődnek ki a beoltott gomba termőteste, így csak a tuskókból vágott korongok

laboratóriumi inkubálását követően megjelenő hifákból és a lefűződő jellegzetes téglalap alakú konídiumokból lehet mikroszkóppal meghatározni a megeredés tényét és mértékét (7. ábra).



7. ábra: A *P. gigantea* jellegzetes téglalap alakú konídiumai
Figure 7: Typical rectangle conidia of *P. gigantea*

Az erdeifenyő-állományokban az üzemi oltások eredményei valamennyi gombatorzs esetében igazolták a kezelések sikerességét (8. ábra).



8. ábra: Üzemi kezelések eredményei. Az eltérő *P. gigantea* izolátumok (15.31; 15.33; 15.24) 10^4 CFU/ml koncentrációjú inokulumával kezelt tuskók vágáslapján a gomba átlagos borítási értéke ($n=10$). (Az oszlopok feletti betűjelzés a statisztikai különbségre utal, $p<0,05$ szignifikancia szinten, egyutas varianciaanalízissel tesztelve.

A varianciaanalízishez - a varianciák inhomogenitása miatt- $\arcsin(x)$ transzformált adatokat használtunk.)

Figure 8: The results of treatments in managed forests. Average coverage of fungi (15.31; 15.33; 15.24) on the surface of experimental stumps, after treatment with inoculi of 10^4 CFU/ml concentration of different *P. gigantea* isolates ($n=10$). (The letters above the columns are standing for statistical differences, on $p<0.01$ significance level, tested with one-a-way analysis of variance. For the analysis of variance

– due to the inhomogeneity of variances – $\arcsin(x)$ transformed data were used.)

Az idősebb állományban végzett szegélykezelések tuskóvizsgálati eredményei is azt mutatják, hogy a ráoltott gomba sikeresen megtelepedett a tuskókön. Ennek eredményeként a gyöke-
rekbe való bejutása is bekövetkezik a jövőben, így a pusztult foltok terjedése reményeink szerint megállítható. A kezelések ez irányú eredményeit azonban csak néhány év múlva lehet egyértelműen megállapítani, amikor visszatérve a területre az adott folt méretét és az állományszegélyek fainak állapotát megvizsgáltuk.

A szabadföldi kísérletek gyakorlati eredményei egyértelműen bizonyították, hogy a korábbiakban Pagony által alkalmazott eljárás ismételt kifejlesztésével és alkalmazásával a technológia hatékonyan felhasználható a gyökérrontó tapló elleni védekezésekben. Az egyre fogyatkozó, de még mindig jelentős térfoglalású erdei- és feketefenyő állományokban a kezelések segíthetnek a jövedelem megtartásában, ezért javasoljuk a gyökérrontó tapló elleni biológiai védekezési eljárást az erdészeti potenciál helyreállítási támogatások körébe felvenni.

ÖSSZEFOGLALÁS

A gyökérrontó tapló elleni biológiai védekezési technológia kifejlesztése során első lépésként *H. annosum* és *P. gigantea* termőtesteket gyűjtöttünk fertőzött erdeifenyő-állományokból, és ezekből tisztatenyészeteket állítottunk elő a további vizsgálatokhoz. A két gombafaj tenyészetével laboratóriumi körülmények között petricsészés konfrontációs vizsgálatokat végeztünk az általunk begyűjtött négy, illetve az ERTI törzsgyűjteményéből származó két *P. gigantea* gomba törzssel az antagonista hatás mértékének megállapítására. Az eredmények igazolták, hogy a begyűjtött „P” biotípusú *H. annosum* törzsekkel szemben jelentős antagonista hatása van a *P. gigantea* gombának. A további szabadföldi kísérletekhez kiválasztottuk a konfrontációs vizsgálatok alapján leghatékonyabbnak tűnő *P. gigantea* gombatörzseket, és ezeket vontuk be a tömegszaporítási kísérletekbe. A bioreaktorban végzett tenyésztési kísérletekben három izolátum tűnt megfelelőnek a kiválasztott gombatörzsek közül. E három gombatörzsből előállított oltóanyaggal végeztük a szabadföldi oltási kísérleteket. A kezeléseket gyérítési korú erdeifenyő-állományokban az oltóanyag különböző spórakoncentrációjával állítottuk be. A kezeléseket követő megeredési vizsgálatok során megállapítottuk, hogy a *P. gigantea* inokuluma 10^4 CFU/ml koncentrációban 10 ml/tuskó oltóanyag-mennyiséggel eredményesen elvégezhető a tuskók kezelése, a *P. gigantea* gomba mesterséges megtelepítése. A kísérleti eredmények igazolták, hogy a kifejlesztett környezetbarát, biológiai védekezési eljárás hatékonyan alkalmazható a gyökérrontó tapló elleni megelőző védelemben.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnénk köszönetet mondani a NYÍRERDŐ Zrt. munkatársainak, Juhász Lajosnak és Pályi Zoltánnak, akik közvetlenül segítettek a terepi munkánkat. Ugyancsak köszönet illeti Sulyok Csabát, aki a Monori Erdészetről támogatta a terepi munkálatokat. A laboratóriumi kísérletekben Majsai Erika segítette a munkánkat, köszönjük!



A technológiai fejlesztésre a 2009-2011 közötti időszakra elnyert Baross Gábor-pályázat (azonosító szám: nf081010) támogatásával került sor.

FELHASZNÁLT IRODALOM

- Annesi, T.; Curcio, G.; D. Amico, L. and Motta, E. 2005: Biological control of *Heterobasidion annosum* on *Pinus pinea* by *Phlebiopsis gigantea*. *Forest Pathology*, 35: 127-134.
- Campbel, R. 1989: Biological control of microbial plant pathogens. Cambridge University Press, Cambridge, 218 pp.
- Capretti, P.; Korhonen, K.; Mugnai, L. and Romagnoli, C. 1990: An intersterility group of *Heterobasidion annosum* specialized to *Abies alba*. *European Journal of Forest Pathology*, 20: 231-240.
- Cook, R.C.; and Rayner, A.D.M. 1984: Ecology of saprotrophic fungi. Longman, London, 415 pp.
- Froelich, R.C.; Kuhlman, E.G.; Hodges, C.S.; Weiss, M.J. and Nichols, J.D. 1977: *Fomes annosus* Root Rot in the South, Guidelines for Prevention. Southeastern Area, State and Private Forestry, Forest Service, U. S. Department of Agriculture.
- Kallio, T. and Hallaksela, A.M., 1979: Biological control of *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. (*Fomes annosus*) in Finland. *European Journal of Forest Pathology*, 9: 298-308.
- Korhonen, K. 1978: Intersterility groups of *Heterobasidion annosum*. *Communicationes Instituti Forestalis Fenniae*, 94(6): 25 pp.
- Korhonen, K. and Stenlid, J. 1998: Biology of *Heterobasidion annosum*. In: *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and control*. Ed. By Woodward, S.; Stenlid, J.; Karjalainen, R.; Hüttermann, A.; Wallingford, New York: CAB International. 43-71.
- MgSzH 2008: Magyarország erdőállományai 2006. Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal Központ Erdészeti Igazgatósága, Budapest 2008. http://www.mgszh.gov.hu/erdeszeti_cd/htm/5__5_1_1_1_fejezet.htm#5_1_1
- Nicoletti, G. and Gonthier, P. 2005: Stump treatment against *Heterobasidion* with *Phlebiopsis gigantea* and some chemicals in *Picea abies* stands in Western Alps. *Forest Pathology*, 35: 365-374.
- Pagony H. 1981: Az erdeifenyő fontosabb kórokozó gombái és az ellenük való védekezés. Doktori értekezés, Budapest, 1981.
- Pagony H. 1983: Fenyőtermesztésünk erdővédelmi problémái, különös tekintettel a határtermőhelyekre. *Az Erdő*, 32 (4): 155-162.
- Pagony H. 1985: Az óriás területgomba (*Peniophora (Phlebia) gigantea* (Fr.) Masse) alkalmazási lehetősége a gyökérrontó tapló (*Fomes annosus* (Fr.) Cooke) leküzdésére erdei- és feketefenyvesekben. *Erdészeti Kutatások*, 76-77: 279-286.
- Pagony H. és Szántó M. 1995: Előzetes adatok a gyökérrontó tapló (*Heterobasidion annosum*/Fr./Bref.) magyarországi intersteril csoportjairól. *Erdészeti Kutatások*, 85: 151-167.
- Renvall, P. 1995: Community structure and dynamics of wood-rotting Basidiomycetes on decomposing conifer trunks in northern Finland. *Karstenia*, 35: 1-51.
- Risbeth, J. 1963: Stump protection against *Fomes annosus*. III. Inoculation with *Peniophora gigantea*. *Annals of Applied Biology*, 52: 63-77.
- Risbeth, J. 1979: Modern aspects of biological control of *Fomes* and *Armillaria*. *European Journal of Forest Pathology*, 9: 331-340.
- Swanwick, S. 2007: Ecophysiology and production of the biocontrol agent *Phlebiopsis gigantea*. PhD Thesis, Cranfield University, UK, pp. 192-199.
- Tóth J. 1986: Az alföldi fenyvesek egészségi állapota. *Erdészeti Kutatások*, 78: 339-344.

- Tubby, K.V.; Scott, D. and Webber, J.F. 2008: Relationship between stump treatment coverage using the biological controlproduct PG Suspension, and control of *Heterobasidion annosum* on Corsican pine ssp. Laricio. Forest Pathology, 38: 37-46.
- Virtanen, V.; Nyssölä, A.; Vuolanto, A.; Leisola, M. and Seiskari P. 2008: Bioreactor for solid-state cultivation of *Phlebiopsis gigantea*. Biotechnology Letters, 30: 253-258.

Érkezett: 2011. május 9.
Elfogadva: 2012. szeptember 3.