

A GYÖKÉRKORHADÁST OKOZÓ *ARMILLARIA* (TUSKÓGOMBA) FAJOK ELLENI BIOLÓGIAI VÉDEKEZÉS LEHETŐSÉGEI

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

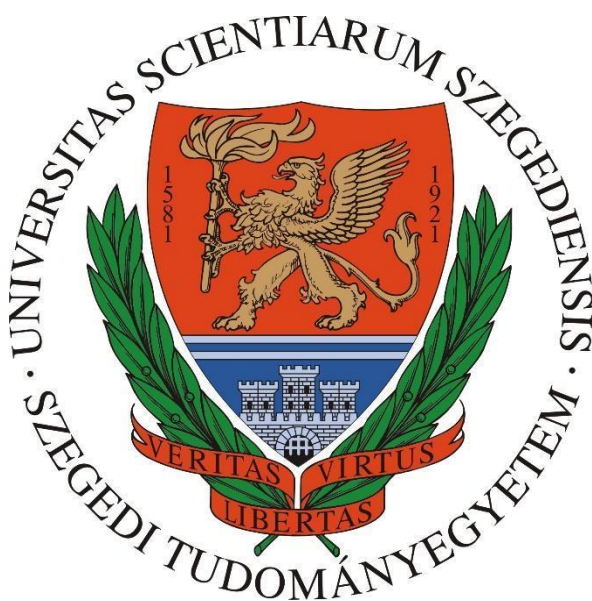
KEDVES ORSOLYA

TÉMAVEZETŐK:

DR. KREDICS LÁSZLÓ, EGYETEMI DOCENS

PROF. DR. SIPOS GYÖRGY, EGYETEMI TANÁR

BIOLÓGIA DOKTORI ISKOLA



SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM
TERMÉSZETTUDOMÁNYI ÉS INFORMATIKAI KAR
BIOTECHNOLÓGIAI ÉS MIKROBIOLÓGIAI TANSZÉK

SZEGED

2024

TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK.....	2
1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	5
2. BEVEZETÉS.....	6
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	8
3.1. Az <i>Armillaria</i> nemzetség jellemzése.....	8
3.2. Az <i>Armillaria</i> fajok elleni védekezés.....	11
3.3. Biológiai védekezés mikroorganizmusokkal.....	13
3.3.1. Antagonizmus.....	14
3.3.1.1. Antimikrobiális másodlagos metabolitok.....	15
3.3.1.2. Sziderofórok termelése.....	17
3.3.1.3. Extracelluláris enzimek termelése.....	19
3.3.1.4. Mikofágia.....	21
3.3.2. Indukált szisztémás rezisztencia.....	22
3.3.3. Tápanyag-mobilizálás.....	23
3.3.3.1. Nitrogén fixálás.....	23
3.3.3.2. Foszfornobilizálás.....	23
3.3.4. Növényi hormonok termelése.....	24
3.3.4.1. Indolecetsav (IES).....	24
3.3.4.2. Abszcizinsav (ABS).....	25
3.3.4.3. Etilén.....	26
3.3.4.4. Citokinin.....	26
3.3.4.5. Gibberellin.....	26
3.4. <i>Armillaria</i> elleni védekezés baktériumokkal.....	26
3.5. <i>Armillaria</i> elleni védekezés gombákkal.....	28
4. CÉLKITŰZÉSEK.....	29
5. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	30
5.1. <i>Armillaria</i> és a potenciális biokontroll mikroorganizmusok izolálása és azonosítása.....	30
5.1.1. <i>Armillaria</i> törzsek izolálása és azonosítása.....	30
5.1.2. <i>Armillaria</i> fajok morfológiai vizsgálata pásztázó elektronmikroszkóppal.....	33
5.1.3. Potenciális biokontroll baktériumtörzsek izolálása és azonosítása.....	33
5.1.4. Egyéb potenciális biokontroll mikroorganizmusok szelektálása és azonosítása.....	34
5.1.4.1. A <i>Chaetomium</i> és <i>Chaetomium</i> -szerű gombák morfológiai jellemzése.....	36
5. 2. Az izolált baktériumok és a gombák biokontroll képességeinek vizsgálata.....	37

5.2.1. <i>In vitro</i> antagonizmus-vizsgálat konfrontációs tenyészetekkel	37
5.2.2. Az <i>Armillaria</i> - biokontroll ágens interakció vizsgálata pásztázó elektronmikroszkóppal	37
5.2.3. A <i>Bacillus</i> törzsek antifungális metabolitok szintéziséért felelős génjeinek vizsgálata	38
5.2.4. Kitináz enzimaktivitás mérése	39
5.2.4. Sziderofórtermelés vizsgálata	40
5.3. Növénynövekedést serkentő tulajdonságok vizsgálata.....	40
5.3.2. Indol-3-ecetsav (IES) termelésének kimutatása spektrofotometriás méréssel.....	40
5.3.3. Extracelluláris szénhidrátbontó és foszfatáz enzimaktivitások mérése.....	41
5.3.4. A baktériumok csírázást serkentő hatásának vizsgálata fenyőmagok esetében	41
5.4. Statisztikai analízis.....	42
6. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK	43
6.1. Izolált <i>Armillaria</i> törzsek	43
6.2. Izolált potenciális biokontroll baktériumok	45
6.3. Szelektált potenciális <i>Armillaria</i>-biokontroll gombák.....	47
6.3.1. A <i>Chaetomium</i> és <i>Dichotomopilus</i> törzsek morfológiai jellemzői	50
6.3.2. A <i>Dichotomopilus</i> törzsek filogenetikai helyzete és taxonómiája	53
6.4. Az izolált baktériumtörzsek <i>in vitro</i> antagonizmusa <i>Armillaria</i> fajokkal szemben	56
6.4.1. <i>In vitro</i> antagonizmus konfrontációs tenyésztéssel	56
6.4.2. A konfrontációs antagonizmus vizsgálata SEM-mel.....	61
6.5. A baktériumok antagonizmusának molekulaszintű vizsgálata.....	69
6.5.1. Másodlagos antifungális metabolitok	69
6.5.1.1. A <i>Bacillus</i> törzsek antifungális metabolitjainak termeléséért felelős gének	69
6.5.2. A baktériumtörzsek kitináz enzim termelésére való képessége.....	70
6.5.3. A baktériumtörzsek sziderofórtermelése	71
6.6. A potenciális biokontroll baktériumtörzsek növénynövekedést serkentő vegyületek termelésére való képessége	73
6.6.1. A baktériumtörzsek strukturális szénhidrátbontó enzimek termelésére való képessége	73
6.6.2. A baktériumtörzsek indolecetsav-termelése.....	75
6.6.3. A baktériumtörzsek foszformobilizáló képessége	76
6.7. Potenciális biokontroll baktériumtörzsek fenyőmagok csírázásának serkentésére való képessége.....	78
6.8. A szelektált gombatörzsek <i>in vitro</i> antagonizmusa <i>Armillaria</i> fajokkal szemben	79
6.8.1. <i>In vitro</i> antagonizmus konfrontációs tenyésztéssel	79
6.8.2. A konfrontációs antagonizmus vizsgálata SEM-mel.....	81
6.9. A potenciális biokontroll gombatörzsek antagonizmusának molekulaszintű vizsgálata ...	84

6.9.1. A gombatörzsek kitináz enzim termelésére való képessége.....	84
6.10. A potenciális biokontroll gombatörzsek növénynövekedést serkentő vegyületek termelésére való képessége	85
6.10.1. A gombatörzsek strukturális szénhidrátbontó képessége	85
6.10.2. A gombatörzsek indolecetsav-termelése.....	87
6.10.3. A gombatörzsek foszformobilizáló képessége	88
6.11. A baktériumok és gombák biokontroll-tulajdonságainak összehasonlítása	89
7. ÖSSZEFOGLALÁS	94
8. SUMMARY	97
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	100
10. IRODALOMJEGYZÉK.....	101
11. FÜGGELÉK	119

1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

2,4-DAPG - 2,4-diacetilfloroglucinol

4-NF - 4-nitrofenol

ABS - abszcizinsav

BamC - bacillomicint kódoló gén

CAS - krómazurol-szulfonsav

fenB - fengicint kódoló gén

gyrA - DNS-giráz α alegység

IES - indolecetsav

ISR - induced systemic resistance (indukált szisztémás rezisztencia)

ITS - internal transcribed spacer (köztes átíró elválasztó régió)

MEA - malt extract agar (malátakivonat agar)

ML - maximum likelihood (legnagyobb valószínűség)

mycA - mikoszubtilint kódoló gén

NCBI - National Center for Biotechnology Information

PC - Principal component (főkomponens)

PCA - Principal component analysis (főkomponens-analízis)

PCR - polymerase chain reaction (polimeráz láncreakció)

PDA - potato dextrose agar (burgonyadextróz agar)

PGPF - plant growth promoting fungi (növénynövekedést serkentő gombák)

PGPM - plant growth promoting microorganisms (növénynövekedést serkentő mikroorganizmusok)

PGPR - plant growth promoting rhizobacteria (növénynövekedést serkentő rizobaktériumok)

PSB - pszeudobaktin

rpb2 - RNS polimeráz II legnagyobb és második legnagyobb alegysége

rpoB - RNS polimeráz béta alegysége

SEM - scanning electron microscope (pásztázó elektronmikroszkóp)

sfp - szurfaktint kódoló gén

SZMC - Szeged Microbiological Collection (Szegedi Mikrobiológiai Törzsgyűjtemény)

TAE - tris-ecetsav-dinátrium EDTA

tef 1- α - transzlációs elongációs faktor 1- α gén

tub2 - β -tubulin

2. BEVEZETÉS

Az armillarioid gombák (ideértve az *Armillaria* nemzetséget és a közeli rokon *Desarmillaria* fajokat) a gyökérkorhadást okozó növénypatogén gombák közé tartoznak. A nemzetség jelenleg világszerte több mint 40 hivatalosan leírt fajt tartalmaz, amelyek több mint 500 fafajt támadhatnak meg, többek között a természetes erdők fáit, fatermesztésre szolgáló faültetvényeket, gyümölcsösöket, szőlőültetvényeket, parkok és kertek fáit, súlyos gazdasági veszteségeket okozva. Az *Armillaria* fajok többsége fakultatív nekrotrof: az *Armillaria* először kolonizálja és később elpusztítja az élő fák gyökérkambiumát és a fa elpusztítása során lebontja a növényi sejtfalak összes biopolimer-alapú komponensét. A fertőzött, pusztuló fák körül alkalmanként nagyobb kiterjedésben termőtestek jelennek meg, amelyek nagy tömegben bazídiospórákat hoznak létre. A fertőzött fákból kinövő, zsinórszerű, fekete rizomorfák tovább terjeszkedve ráfonódnak és behatolnak a szomszédos fák gyökereibe, illetve a gyökérnyaki részen bejutnak a kéreg alá. Itt először egy, a növényi szövetekhez hifákkal kapcsolódó fehér micéliumlemez jelenik meg, ami aztán lapos rizomorfák kialakításával terjed tovább a fakéreg alatt. A külső tünetek a korona gyérülése, a levelek/tűk hullása, a gyökérfő megvastagodása és a fokozott gyantakiválasztás. Európában eddig öt *Armillaria* (*A. borealis*, *A. cepistipes*, *A. mellea*, *A. ostoyae*, *A. gallica*) és két *Desarmillaria* fajt (*D. tabescens*, *D. ectypa*) azonosítottak. Az *A. cepistipes*, *A. borealis* és az *A. ostoyae* fajok legfőképpen a tűlevelű erdőkben dominálnak, míg a tölgy és lombhullató fafajok esetében az *A. mellea*, *D. tabescens* és az *A. gallica* a legelterjedtebbek.

Az armillarioid gombák kártételével szembeni védekezés nehezen kivitelezhető, mert a kórokozó a talajban lévő fás maradványokban évtizedekig képes életben maradni. A bevezetett kémiai védekezési stratégiák évtizedek óta a korlátozott számú rendelkezésre álló gombaölő szerre támaszkodnak. Az erdőkben és gyümölcsösökben jelenleg alkalmazott gombaölő szerek alacsony hatékonyságúak, és nem elegendőek az *Armillaria* által okozott gyökérkorhadási folyamat megelőzésére, kezelésére. A nagyobb hatékonyságú alternatív gombaölő szerek (pl. a karbendazim, hexakonazol, a propikonazol és a tetraokonazol) a környezetre gyakorolt negatív hatásai miatt korlátozottan alkalmazhatóak. Ezért egyre nagyobb szükség van az új, alternatív biológiai védekezési módszerekre az *Armillaria* okozta fertőzések és a nagyobb mértékű erdőrészek pusztulásának megakadályozására.

A növény rizoszférájában élő mikroorganizmusok fontos szerepet játszanak a növények életképességében, növekedésében és egészségi állapotában. A mikroorganizmusok a növénynövekedés serkentését közvetlenül a tápanyagok mobilizálásával, illetve fitohormon-

termelés útján, közvetve pedig a növényi patogének elleni, hatékony védekezés eredményeként idézik elő. A növénynövekedést serkentő rizobaktériumok (plant growth promoting rhizobacteria-PGPR) (*Bacillus*, *Pseudomonas*) és gombák (plant growth promoting fungi-PGPF) (*Trichoderma*, *Chaetomium*), pozitív bioeffektor hatású ágensként a hagyományos peszticidek vonzó alternatívájának tekinthetők a növényi betegségek kezelésére. Ismertek ugyanis a növénynövekedést serkentő mikroorganizmusok (plant growth promoting microorganisms - PGPM) különböző hatásmechanizmusai, amelyek révén képesek hatékonyan visszaszorítani a mikrobiális növénypatogéneket. Ilyen például a szisztémás rezisztencia indukciója (induced systemic resistance-ISR) a növényekben, antimikrobiális hatású vegyületek termelése, illetve a tápanyagokért és ezáltal közvetve a helyért folytatott hatékony kompetíció.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. Az *Armillaria* nemzetség jellemzése

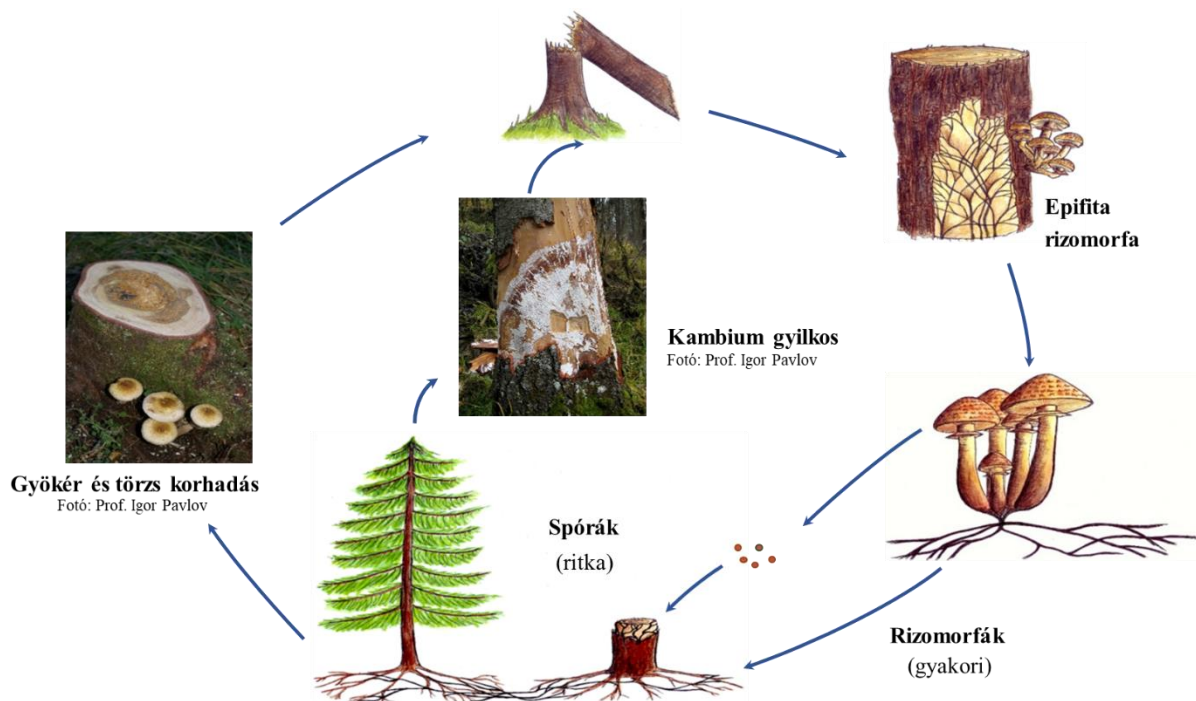
Az *Armillaria* fajok a *Basidiomycota* törzs *Agaricales* rendjén belül a *Physalacriaceae* családba tartoznak (Baumgartner és mtsai., 2011). Két faj nemrégiben új rendszertani besorolást kapott, miszerint az *Armillaria* nemzetségből az új *Desarmillaria* nemzetségbe került (Koch és mtsai., 2017). Európában hét *Armillaria* / *Desarmillaria* faj előfordulása ismert, ezek az *A. mellea* (Vahl: Fr) Kumm., *A. ostoyae* (Romagn) Herink., az *A. gallica* Marxm. és Romagn., az *A. borealis* Marxm. Korhonen., az *A. cepistipes* Velen., a *D. tabescens* (*A. tabescens*) (Scop.:Fr) Emel. és a *D. ectypa* (*A. ectypa*) (Fr.) Lamoure (Guillaumin és mtsai., 1993; Heinzelmann és mtsai., 2019; Koch és mtsai., 2017; Sierra és mtsai., 1999).

Az *Armillaria* nemzetség fajai szaprofita életmódot folytatnak, hozzájárulva az erdei ökoszisztémák szerves anyagainak lebomlásához. Ugyanakkor, ha a környezeti feltételek kedvezőek a fertőzés számára, ezek a fajok kórokozóvá válhatnak. Ezzel szemben más, a nemzetségbe tartozó gombafajok elsődleges növényi kórokozók (Coetzee és mtsai., 2018). Az *Armillaria* fajok a tengerszinttől a magas hegyvidékekig megtalálhatók különböző típusú talajokban (Guillaumin és mtsai., 1993). Nagyfokú környezeti feltételekhez való alkalmazkodó képességgel rendelkeznek, ami evolúciós előnyt jelenthet számukra a klímaváltozáshoz és az új gazdanövényekhez való alkalmazkodásban (Labbé és mtsai., 2017). A nemzetség mindegyik faja megtalálható a természetes és mesterséges ökoszisztémákban, ahol különböző elpusztult faanyagokon (például gyökerek, tuskók, hulladékok) szaprotróf életmódot folytatnak és, képesek lebontani a lignint, fehér rothadást eredményezve (Cruickshank és mtsai., 1997). Az *Armillaria* fajok a hatékony terjedéshez több stratégiát alkalmaznak, rövidtávon rizomorfákon és gyökérkapcsolatokon keresztül terjednek, hosszú távon bazidiospórák segítségével (Baumgartner és Rizzo, 2001). A rizomorfák az *Armillaria* fajokra jellemző, exploratív képződmények, amelyeket sötét, melanizált sejtek rétege vesz körül. Elfoglalják a környező talajt, új táplálékforrásokat érnek el és kolonizálnak, ami javítja a szélsőséges környezeti körülmények között történő túlélés esélyeit (Koch és mtsai., 2017). Ezek a struktúrák körülbelül 1 métert növekednek évente, több irányban egyszerre, és fajtól függően akár 4 mm-es átmérőjük is lehet (Sipos és mtsai., 2018).

Az opportunistá patogén fajok – mint például az *A. gallica* – különösen sűrű rizomorfhálózatokat képesek kialakítani mind természetes, mind ültetett erdőkben, szemben az elsődleges patogén fajokkal (*A. mellea*), amelyek kevesebb rizomorfát termelnek (Guillaumin és mtsai., 1993; Travadon és mtsai., 2012). A rizomorfákat a terjedés mellett a zord környezeti

feltételekhez való adaptáció stratégiájának tekintik, amely az *Armillaria* fajok számára versenyelőnyt biztosíthat (Koch és mtsai., 2017). A rizomorfák mellett a gyökerek közvetlen érintkezése is lehetővé teszi, hogy a fertőzött gyökerekben jelen lévő gombamicélium megfertőzze a szomszédos fák egészséges gyökereit (Lung-Escarmant és Guyon, 2004; Rishbeth, 1985) (1. ábra).

A hosszabb távú terjedés feltételezhetően az ivaros bazídiospórákon keresztül történik, bár szerepük az *Armillaria* életciklusában még mindig nem teljesen tisztázott (Baumgartner és mtsai., 2011). Az *Armillaria* fajok által okozott fertőzés első szakasza a gomba megtapadása a növényen. Úgy vélik, hogy a gazdanövény felszínén történő megtapadást a rizomorfák által termelt anyag segíti elő (Powell és Rayner, 1983; Yafetto és mtsai., 2009).



1. ábra. Az *Armillaria* fajok életciklusának sematikus ábrázolása (Champramary, 2024).

A fapusztulás előtt a kolonizáció a korona elhalásához, az alsó törzs deformálódásához, gyantás gyökérsérülésekhez és a legtöbb fafaj esetében a növekedési intenzitás csökkenéséhez vezethet. Az *Armillaria* a fás szövetek kolonizációja során először a fák gyökérekambiumában jelenik meg, aztán a micéliumok behatolnak a szár belső szöveteibe (parazita fázis) (Guillaumin és Legrand, 2005), és az élő fa elpusztulása és szöveteinek elhalása után lebontja a növényi sejtfalak összes biopolimer jellegű komponensét, beleértve a lignint, a hemicellulózt, a cellulózt és a pektint is (szaprofita fázis) (Travadon és mtsai., 2012). A termőtestek nagy számban megjelennek a fertőzött növények környezetében is. Az ebből fejlődő, zsinórszerű fekete rizomorfák körbefonják és behatolnak a fák gyökereibe, valamint a gyökérszerű részen a kéreg

alá jutnak. A kéreg alatt először fehér, legyező formájú micéliumlemez jelenik meg, majd lapos rizomorfák alakulnak ki (1. ábra). A fa szövetében a micélium extracelluláris enzimeket választ ki, és a fa tápanyagait és vizét hasznosítja, ami a fa növekedésének csökkenéséhez és pusztulásához vezet. Az *Armillaria* fajok más megjelenési formáihoz képest a micéliumlegyezők génexpressziós profilja mutatja a növényi sejtfalbontó enzimek legszélesebb körű előfordulását (Sipos és mtsai., 2018). A külső tünetek a korona gyérülése, a levelek hullása, a gyökfő megvastagodása és a fokozott gyantakiválasztás (Kedves és mtsai., 2021a).

Az *A. gallica* szaprofitaként vagy opportunistá patogénként ismert, változó virulenciával. Néhány izolátum ritkán idéz elő betegséget, míg mások jelentős károkat okoznak. Az *A. gallica* fertőzése kisebb valószínűséggel pusztítja el az egészséges fákat, azonban másodlagos patogénként képes megölni azokat, amelyeket már hajlamosító tényezők vagy egy elsődleges betegség legyengített. Ez a faj kevésbé hatékony a fa természetes ellenállásával szemben, és nehezen hatol be az ép kéregbe (Rishbeth, 1985; Kedves és mtsai., 2021).

Az északi féltekén az *Armillaria* nemzetség legjelentősebb és legagresszívebb elsődleges patogén faja az *A. mellea* széles gazdaspektrummal, mintegy 500 gazdafajjal. Számos lombhullató és örökzöld keményfán, például tölgy vagy bükk esetében súlyos károsodást okoz (Guillaumin és mtsai., 1991; Marçais és Caël, 2006; Rishbeth, 1985; Sierra és mtsai., 1999). Képes az egészséges fákat kolonizálni, és a legnagyobb károkat okozó *Armillaria* faj, amely képes áthatolni a fa ép, egészséges kérgén is (Rishbeth, 1985). Az *A. mellea* évente 10-40%-os veszteséget okozott a szőlő (*Vitis vinifera*) termésében Kaliforniában (Baumgartner, 2004).

Az *A. ostoyae*-t elsődleges patogénnek tartják, amely gazdaspecificitást mutat (Morrison és Pellow, 2002; Rishbeth, 1985), és komoly károkat képes okozni elsősorban tűlevelű erdőkben (Guillaumin és mtsai., 1993; Robene-Soustrade és mtsai., 1992; Travadon és mtsai., 2012). Ezt a fajt másodlagos patogénként is azonosították lombosfákon is, bár kevésbé virulens módon. Az *A. ostoyae* képes egészséges fákat kolonizálni, amikor a gazda szöveleinek ellenálló képessége alacsony, és valószínűleg fenyőfákról kerül át, mielőtt más lombos fákat megfertőz (Rishbeth, 1985). Amint a betegség kialakul, agresszívan terjed a talajban lévő rizomorfák segítségével, bár a rizomorfák jelenléte változó (Morrison és Pellow, 2002; Rishbeth, 1985; Wargo és Carey, 2001). Előfordulhat, hogy akár 500 m-re is eljut a betegség fertőzés központjától. A populációszerkezet jellegzetesen klonális reproduktív stratégiát mutat, és sok fertőzött területen egy vagy néhány genotípus fertőz meg akár teljes erdőszakciókat is (Baumgartner és mtsai., 2011; Dettman és van der Kamp, 2001).

Az *A. cepistipes* szaprotróf és kevésbé patogén faj, amely lombhullató és tűlevelű erdőkben egyaránt előfordul (Guillaumin és mtsai., 1993). Az *A. cepistipes* elterjedésének északi határa az északi sarkkör, míg a déli határa Görögországban található (Guillaumin és mtsai., 1993; Tsopelas, 1999). Valószínűleg a leggyakoribb *Armillaria* faj Közép-Európában (Guillaumin és mtsai., 1993; Legrand és mtsai., 1996). Ökológiájában az *A. cepistipes* nagyon hasonlít az *A. gallica*-hoz, amely azonban gyakrabban fordul elő alacsony tengerszint feletti magasságban (Legrand és mtsai., 1996).

3.2. Az *Armillaria* fajok elleni védekezés

A patogén *Armillaria* fajok által okozott súlyos gazdasági és ökológiai károk hatékony védekezési stratégiákat igényelnek. A kártételükkel szembeni védekezés nehezen kivitelezhető, mert a kórokozó a talajban maradt fás maradványokban évtizedekig képes életben maradni (Reaves és mtsai., 1993; Redfern, 1973). Az 1970-es évektől számos kémiai fungicid hatékonyságát vizsgálták az *Armillaria* elleni védekezésre különböző természetes erdei ökoszisztémákban, valamint növénytermesztési rendszerekben. A kutatások többsége a mezőgazdasági növények fertőzésének megelőzésére összpontosított, és mivel az *Armillaria* inokuluma a föld alatti gyökérmaradványokban lévő micéliumból származik, a legtöbb vizsgált védekezési stratégia a talaj fertőtlenítésére irányult. A talajfertőtlenítést jellemzően nagy értékű növények (pl. borszőlő, dió) telepítése előtt alkalmazzák a talajban terjedő kártevők és betegségek leküzdésére olyan vegyszerrel, amely az alkalmazás során illékony gázzá alakul (Baumgartner és mtsai., 2011). Filip és Roth (1977) hatékonyan pusztították el a fertőzött amerikai sárgafenyő (*Pinus ponderosa*) tuskóiban előforduló *A. mellea*-t metil-bromiddal, vorlex-el (hatóanyagai: 1,3-diklór-propán, metil-izocianát), klórpikrinnel, szén-diszulfiddal és vapam-mal (hatóanyaga: metám-nátrium) végzett *in situ* fertőtlenítéssel, *A. ostoyae*-val szemben viszont nem volt hatásos a kezelés. Adaskaveg és munkatársai (1999) a talaj fertőtlenítését nátrium-tetratiokarbonáttal végezték, amely szén-diszulfid gázzá bomlik, illetve a demetilációs inhibitor propikonazol fungiciddal kezeltek őszibarack- és mandulaültetvényeket. Megfigyelték, hogy az *Armillaria*-t a talajban csak akkor tudják elpusztítani, ha az ültetés előtt és után is kezelik a talajt nátrium-tetratiokarbonáttal, viszont ebben az esetben a mandulafák mortalitása szignifikánsan megnövekedett a fitotoxicitás miatt, és a kezelés még így sem pusztította el teljesen a növények másodlagos és harmadlagos gyökereiben a gombát. A propikonazol gátolta a burgonyadextróz agaron (potato dextrose agar-PDA) növesztett *A. mellea* micéliumnövekedését, valamint alkalmazása 7-8 éves mandulafákon sikeresen csökkentette a fertőzött fák mortalitását. A szén-diszulfid azonban csak szárazabb

talajokon hatásos, és a szereket legalább 60 cm mélyen kell a talajba fecskendezni, a kezelés pedig legjobb esetben is csak a góccok számát csökkenti, a betegséget nem szünteti meg. Ezen szerek használata az *Armillaria* kórokozók elpusztítására a kezelt területeken azonban nagyon költséges és munkaigényes, valamint egészségügyi kockázatot is jelent a munkások és gazdálkodók, valamint az egyéb növények és állatok számára (Fox, 2003; Robinson és Smith, 2001). Az *Armillaria* elleni leghatásosabb fertőtlenítőszer, a metil-bromid végül betiltásra került, mivel különösen káros az ózonrétegre (Baumgartner, Coetzee, és Hoffmeister 2011).

Az *Armillaria* ellen specifikus Armillatox nevű fenolos készítmény, amely hatóanyagként 48% krezilsvavat tartalmaz, 1971-ben került először forgalomba. A szer magas koncentrációban (40000-60000 ppm) képes volt az *Armillaria* növekedésének gátlására laboratóriumi körülmények között (Rahman, 1978). Pawsey és Rahman (1976) szabadföldi kísérletekben kimutatták, hogy bár ez a készítmény sok rizomorfit elpusztított könnyű szerkezetű talajokban, nehezebb talajokon kevésbé volt hatékony, és észrevehetően károsította egyes fajok gyökereit. Hasonló krezilsvav-fenol keveréket (Bray's Emulsion) is forgalomba hoztak. West és Fox (2002) szabadföldi és cserepes kísérletek során kimutatták, hogy egyik fenolos fungicid sem csökkentette a fertőzés előfordulását, a Bray-emulzió továbbá megnövelte a gyökérekolonizáció mértékét 5 cm mélységben, ami arra utal, hogy az *Armillaria* egyes fenolos fungicidekkel történő stimulálása kontraproduktív lehet. Az *Armillaria* micéliuma túlélte a gombaölő szer kezdeti alkalmazását, mivel a fa belsejében a gombaölőszertől védett volt, valamint a későbbiekben a fenolos fungicid serkentette az *Armillaria* növekedését. Ezenkívül számos olyan talajlakó mikroorganizmus elpusztulhat a fenolos kezelés következtében, amelyek az *Armillaria*-val szemben antagonisták lehetnek, tovább növelve a gomba kolonizációs esélyeit.

Amellett, hogy a rendelkezésre álló vegyszerek nem tudják teljes mértékben elpusztítani az *Armillaria* micéliumot a talajban, a talajfertőtlenítés további hátránya, hogy veszélyes az emberekre, növényekre és az állatokra. Továbbá, a fertőtlenítés után a növények újratelepítése szükséges, és a termőérettség elérése több évbe telik (például dió esetében). Emiatt a fertőzés utáni szerek alkalmazását vizsgálták, amelyekkel csökkenthetik a termésvesztést. Az egyik vizsgált fungicidcsoport a demetilációs inhibitorok. Gohet és munkatársai (1991) a ciprokonazol *in vitro* hatékonyságát bizonyították malátakivonat-agaron (malt extract agar – MEA) az *A. mellea* ellen. Ugyanennek a fungicidnek a hatékonyságát állapították meg Thomidis és Exadaktylou (2012) Macedóniában és Görögországban található alma-, dió- és kiviültetvényeken végzett terepi kísérletek során. Egyéb szterol bioszintézist gátló szerekről,

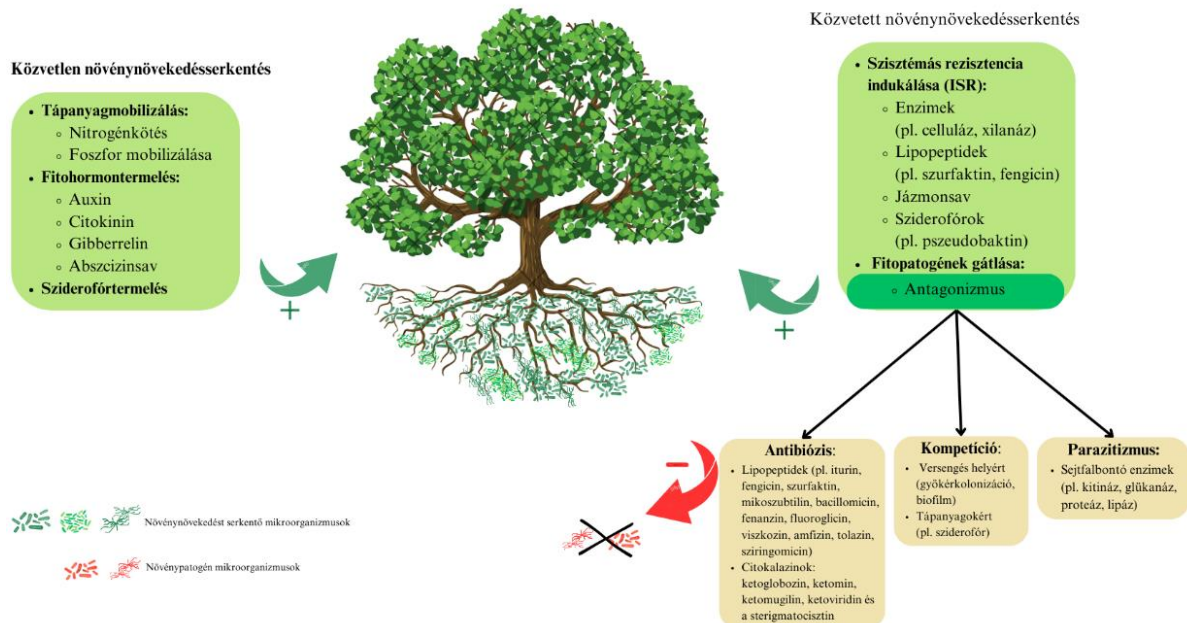
mint például a hexakonazolról, a propikonazolról és a tetrakonazolról szintén megállapították, hogy hatékony gombaölőszerek az *Armillaria* fajok ellen szőlő- és barackültetvényeken (Adaskaveg és mtsai., 1999; Aguin és mtsai., 2006). A vegyszerekkel szemben mutatott érzékenység mértéke függ a kezelt *Armillaria* fajtól. Az *A. mellea* az *Armillaria* nemzetség vegyszerekkel szemben legellenállóbb fajának bizonyult (Fox, 2003).

A rendelkezésre álló, általánosan elérhető fungicidek többsége nem kontrollálja jelentősen az *Armillaria* fajokat (West és Fox, 2002). Az *Armillaria* kórokozók élő gazdából történő kiirtása alacsony hatékonyságú, mivel nem sikerül közvetlenül a fertőzött gyökerekre juttatni a gombaölőszert. A kémiai gombaölő szerek vizsgálata során rájöttek, hogy használatuk a természetes és ültetett fás élőhelyeken nem megfelelő stratégia, mivel a vegyszereknek több negatív hatásuk van, mint pozitív, ezért egyre nagyobb szükség van az új, alternatív védekezési módszerekre az *Armillaria* gyökérrothadás elleni küzdelemben (Kedves és mtsai., 2021a).

3.3. Biológiai védekezés mikroorganizmusokkal

A növénynövekedést elősegítő mikroorganizmusok (PGPM) magukba foglalják a növénynövekedést elősegítő rizobaktériumokat (PGPR) és a növénynövekedést elősegítő gombákat (PGPF). A PGPM-ek aktívan kolonizálják a növények gyökereit, feltételezhetően az összes növényfajjal kapcsolatban állnak, és sokféle környezetben jelen vannak (Baron és Rigobelo, 2022; Compant és mtsai., 2005). A PGPM-ek egy része a gyökér belsejébe is bejuthat, és endofita populációkat hozhat létre. Képesek átlépni az endodermisz-gátat, átjutva a gyökérből az érrendszerbe, majd endofitaként szaporodnak a szárban, levelekben, gumókban és más szervekben, és szimbiózisban élnek a növényvel (Kumar és mtsai., 2012; Lodewyckx és mtsai., 2002; Maheshwari, 2012; Mercado-Flores és mtsai., 2014; Santoyo és mtsai., 2016). A PGPM-ek fontos szerepet töltenek be a növények életképességének és egészségi állapotának javításában. A növénynövekedés serkentését közvetlenül tápanyag-mobilizáció illetve fitohormon-termelés útján, közvetve pedig a növénypatogének elleni, különféle mechanizmusok által megvalósuló védekezés útján idézik elő (2. ábra) (Maheshwari, 2012). A PGPM-ek a hagyományos peszticidek vonzó alternatívájának tekinthetők a növényi betegségek kezelésére. A növények növekedését elősegítő képességük mellett ismertek a PGPM-ek különböző mechanizmusai, amelyek képesek elnyomni a növénypatogén mikroorganizmusokat. A szisztémás rezisztencia indukciója (induced systemic resistance, ISR) a növényekben olyan folyamat, amely során különböző mikroorganizmusok által kiváltott biokémiai reakciók révén a növények immunrendszere megerősödik (Baron és Rigobelo, 2022). A PGPM-ek számos antibiotikus vegyületet és enzimet képesek termelni, melyek

segítségével antagonista hatást fejtenek ki, így meggátolhatják a növénykórokozók növekedését a gyökérszónában, valamint beindítják a növény védekezési rendszerét (Pérez-Montaño és mtsai., 2014). Egy másik mechanizmus a növényi szövetek kolonizálásának képessége, ezáltal korlátozhatják a fitopatogének megtelepedését a növényi szöveteken, csökkentve a betegségek előfordulását és súlyosságát (Glick, 2012).



2. ábra. A növénynövekedést serkentő mikroorganizmusok (PGPM) hatásmechanizmusai.

3.3.1. Antagonizmus

Antagonizmusról akkor beszélhetünk, amikor egy mikroorganizmus hátrányosan befolyásolja egy másik, vele egy élőhelyen előforduló szervezet életfolyamatait. Az antagonista kölcsönhatások három fő formája az antibiózis, a kompetíció, és a parazitizmus (Mesanza, Iturritxa, és Patten, 2016).

A rizoszférából izolált mikroorganizmusok 1-35%-a mutat antagonista aktivitást növénypatogénekkal szemben (Berg, 2009). Az antibiózis olyan jelenség, amikor a PGPM-ek által termelt vegyületek gátolják a patogének növekedését (Latz és mtsai., 2018). A növénynövekedést serkentő baktériumok és gombák esetében az antibiózis leggyakrabban az antimikrobiális metabolitok termelésére vezethető vissza, amellyel képesek közvetlenül megakadályozni a patogén mikroorganizmusok életfolyamatait, amelyek a gazdanövény egészségére káros hatással lennének. Az antibiotikumok termelésével a mikroorganizmusok hatékonyan tudják gátolni a fitopatogének terjedését, és így hozzájárulnak a növények védelméhez (Abhilash és mtsai., 2016; Zhang és mtsai., 2012).

3.3.1.1. Antimikrobiális másodlagos metabolitok

Az antibiotikumok olyan kismolekulájú szerves vegyületek változatos csoportját alkotják, amelyek különféle mikroorganizmusok növekedését és anyagcsere-folyamatait hátrányosan befolyásolják (Duffy és mtsai., 2003; Glick és Bashan, 1997). Számos antibiotikumot izoláltak különböző baktériumtörzsekből és gombákból. Az antibiotikumok hatásmechanizmusa széles körű, beleértve a sejtfalszintézis gátlását, a sejtmembrán integritásának megváltoztatását, valamint a fehérjeszintézis különböző szakaszaiba való beavatkozást (Maksimov és mtsai., 2011).

A PGPM-ek számos másodlagos metabolitot termelnek, melyek hatásosak a kórokozók ellen, ilyenek például az alkaloidok, szteroidok, terpenoidok, peptidek, poliketonok, flavonoidok, kinolonok, fenolok, klórozott vegyületek és illékony szerves vegyületek. Ezek a vegyületek vírusellenes, antibakteriális, gombaellenes és rovarellenes hatásúak is lehetnek (Baron és Rigobelo, 2022; Lugtenberg és mtsai., 2016). A gombák különféle, gombaellenes és antibakteriális hatású antibiotikumokat termelnek, amelyek ennek megfelelően világszerte széles körben használatosak gyógyszerként, különösen a penicillinek, és a cefalosporinok (Conrado és mtsai., 2022).

A mezőgazdaságban és erdőgazdálkodásban legfontosabb természetes antibiotikumok termelését a baktériumok közül leggyakrabban különböző *Bacillus* és *Pseudomonas* fajok esetében figyelték meg (Beneduzi és mtsai., 2012; Haas és Défago, 2005). A gombák közül is sok faj képes ilyen vegyületeket termelni, például a *Trichoderma* (Awad és mtsai., 2018) és a *Chaetomium* (Madbouly és Abdel-Wareth, 2020) nemzetségek képviselői.

A *Bacillus* fajok a Bacillota törzs Bacillales rendjén belül a Bacillaceae családba tartoznak, endospóra képző baktériumok. Az általuk termelt antibiotikumok közül a legfontosabbak a lipopeptidek, amelyek 7-10 aminosavból és 13-19 szénatomos béta-hidroxi-zsírsavból álló ciklikus szerkezetű vegyületek (Zhao és mtsai., 2017), amelyek felületaktív tulajdonságokkal rendelkeznek (Kumar és mtsai., 2015). A lipopeptidek nem mérgező, biológiailag lebomló, rendkívül stabil, környezetbarát, nem szennyező biomolekulák (Dimkić és mtsai., 2015). A lipopeptidek nagymértékben ellenállnak a peptidázok, proteinázok és oxidázok hatásainak, valamint a magas hőmérsékletnek (Maksimov és mtsai., 2020). Könnyen és erősen képesek kötődni a lipidrétegekhez és így megbontják a biológiai membránok integritását (Ongena és Jacques, 2008). Három legfontosabb csoportjuk a szurfaktinok, az iturin, és a fengicin (Raaijmakers és mtsai., 2010; Dimkić és mtsai., 2015; Wang és mtsai., 2015; Ongena és Jacques 2008). Ezekon kívül a baktériumok termelnek más lipopeptideket is,

mint pl. a polimixin, bacitracin, mikoszubtilin és bacillomicin (Chowdhury és mtsai., 2015; El Arbi és mtsai., 2015; Ongena és Jacques, 2008; Torres és mtsai., 2016). A bacillomicin és mikoszubtilin az iturinok családjába sorolhatóak a peptidlánc összetétele és elhelyezkedése alapján (Wang és mtsai., 2015). Az iturin és a fengicin erős gombaellenes, a szurfaktin pedig antibakteriális és antivirális hatással rendelkezik (Gond és mtsai., 2015; Romero és mtsai., 2007). Számos vizsgálat kimutatta, hogy ezek a lipopeptidek jótékony hatással vannak a gyökerek kolonizálására, valamint kulcsszerepük van a *Bacillus* fajok és a növények közötti kapcsolatban azáltal, hogy aktiválják az ISR-t (Malviya és mtsai., 2020; Ongena és Jacques, 2008). A lipopeptidek kölcsönhatásba lépnek a sejtmembránban található foszfolipid molekulákkal és a lipidmembránok károsodását okozzák (Dimkić és mtsai., 2022; Malviya és mtsai., 2020).

Az egyik legjobban tanulmányozott baktérium a *B. subtilis*, amely genomjának mintegy 4-5%-át antibiotikumszintézisre használja és számos mikrobaellenes vegyületet képes szintetizálni. Iturint a *B. subtilis*, a *B. licheniformis* és a *B. amyloliquefaciens*, szurfaktint a *B. coagulans*, *B. pumilus* és *B. licheniformis*, fengicint a *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. subtilis* és a *B. amyloliquefaciens* termel (Wang és mtsai., 2015; Ongena és Jacques 2008; Malviya és mtsai., 2020).

A *Pseudomonas* fajok a Pseudomonadota törzs Pseudomonadales rendjén belül a Pseudomonadaceae családba tartoznak, antagonizmusukért felelős legfontosabb másodlagos metabolitok a floroglucin, pyoluteorin, fenazinok, pirrolnitrinek, és a ciklikus lipopeptidek (Höfte és Altier, 2010). A legsokoldalúbb másodlagos metabolitok a fenazinok, melyek a nitrogéntartalmú heterociklusos antibiotikumok széles csoportját alkotják (Dimkić és mtsai., 2022). A fenazinok redox vegyületek, amelyek többféle mechanizmussal gátolják a mikrobiális növekedést, beleértve a DNS-replikáció gátlását, az elektrontranszport zavarását, a membránfunkció elvesztését és az energiatermelés megzavarását (Sreejith és mtsai., 2019). Szerkezeti jellemzők alapján a *Pseudomonas* fajok által termelt ciklikus lipopeptideket négy nagy csoportba sorolják, melyek a viszkozin, amfizin, tolazin és a sziringomicin (Nybroe és Sørensen, 2004). Kiemelt szerepet játszik a növényi betegségek elleni védekezésben a 2,4-diacetilfloroglucinol (2,4-DAPG), melynek gombaellenes aktivitása van. A 2,4-DAPG hatékonyan gátolja számos fitopatogén gomba, baktérium, és vírus növekedését. Képes megzavarni a kórokozók sejtfalának szerkezetét, gátolni a spóráképződést, és elpusztítani a gombahifákat. A 2,4-DAPG serkenti a növények immunrendszerét, aktiválja az ISR-t (Haas és Défago, 2005; Tabassum és mtsai., 2017).

A *Chaetomium* Kunze (Ascomycota, Sordariales) gombanemzetség a Chaetomiaceae család egyik legnagyobb nemzetsége, amely több mint 400 fajt foglal magába (Wang és mtsai., 2014). A *Chaetomium* fajok főként a talajban, illetve endofitaként számos növényben fordulnak elő (Madbouly és Abdel-Wareth, 2020). A nemzetség képviselői több mint 500 bioaktív metabolitot termelnek (Castagnoli és mtsai., 2018), mint például a ketoglobozinokat (Li és mtsai., 2011), xantonokat, antrakinonokat, azafilonokat, terpenoidokat és szteroidokat. Ezeknek a vegyületeknek a biológiai aktivitása széles skálán mozog, például rákellenes, antimikrobiális, enzimgátló, maláriaellenes és antioxidáns hatásaik is ismertek (Zhang és mtsai., 2012). A nemzetség egyik leggyakoribb faja a *Chaetomium globosum*, amely szaprofitaként növekszik a rizoszférában, a növények filoszférájában és a talaj normál kolonizálójaként. Potenciális biokontroll gomba, amely gátolja a baktériumok és gombák növekedését kompetíció, mikoparazitizmus, antibiózis, illetve ezek különféle kombinációi révén (Bajpai, 2017; Linkies és mtsai., 2020).

A citokalazinek a természetes metabolitok fontos csoportját képezik, és évtizedek óta jelentős figyelmet keltettek változatos és gyakran erős bioaktivitásuk miatt, beleértve a tumorellenes, HIV-ellenes és immunmoduláló hatásaikat. A *Chaetomium*-ok a citokalazín mikotoxinok gazdag forrásai, a természetben előforduló citokalazinek körülbelül egynegyede ebből a nemzetségből származik (Chen és mtsai., 2016). Jelentős *Chaetomium* mikotoxinok például a ketoglobozin, ketomin, ketomugilin, ketoviridin és a sterigmatocisztin. A citokalazínokhoz tartozó ketoglobozin-ok a gombaeredetű másodlagos metabolitok nagy csoportját képviselik (Zhang és mtsai., 2012). Széleskörű biológiai aktivitással rendelkeznek, erős toxicitást mutatnak az emberi rákos sejtvonalakkal szemben, ezen kívül gomba-, baktérium- és féregellenes, gyulladáscsökkentő, valamint HIV-ellenes aktivitásokkal is rendelkeznek (Chen és mtsai., 2020; G. Zhang és mtsai., 2013). A ketomin biológiailag aktív Gram-pozitív baktériumok, valamint vírusok ellen, egyes Gram-negatív baktériumok ellen is hatásos, különösen a növénypatogénekkal szemben (Waksman, Burige, és Reilly 1944). A ketoviridin antifungális hatásokkal rendelkezik (Yan és mtsai., 2018).

3.3.1.2. Sziderofórok termelése

A vas elengedhetetlen mikroelem minden élő szervezet számára, és központi szerepet játszik a növényi anyagcserében. A vas szükséges a klorofill szintéziséhez, megtalálható különféle enzimek, mint a citokrómok, citokróm-oxidáz, peroxidáz és kataláz proszitetikus csoportjaiban, valamint részt vesz a vas-kén fehérjék és a ferredoxin működésében (Shahwar és mtsai., 2023; Sujatha és Ammani, 2013). A természetben a vas általában nem érhető el

könnyen a biológiai rendszerek számára, mivel oxidált formában (Fe^{3+}) van jelen, ami nehezen oldódik és ezért kevésbé hozzáférhető. A mikroorganizmusok különféle stratégiákat fejlesztettek ki a vas felvételére, ezek közül a legfontosabb a sziderofórok termelése (Beneduzi és mtsai., 2012). A sziderofórok alacsony molekulatömegű, magas affinitású vas-kelátképző vegyületek, amelyeket baktériumok és gombák termelnek, hogy felvegyék a környezetükben nehezen elérhető vasat. A sziderofórok kulcsszerepet játszanak a vas megszerzésében és fontosak a mikroorganizmusok túléléséhez és virulenciájához, különösen vasszegény környezetben (Ali és Vidhale 2013; Morales-Cedeno és mtsai., 2021). Amikor a mikroorganizmusok érzékelik a környezetükben a vas hiányát, sziderofórokot termelnek és bocsátanak ki. Ezek a vegyületek nagy affinitással kelálják a környezetben található Fe^{3+} ionokat, oldható komplexeket képezve. A vas-sziderofór komplexek felismerése a mikroorganizmusok sejtmembránján található speciális receptorok segítségével történik. A komplexet a receptorok kötésével a sejtbe juttatják, ahol a vas felszabadul és a sejtek által felhasználható formába kerül. A vas felszabadulása után a sziderofórok újra kibocsátódnak, vagy a sejten belül lebomlanak és újrafelhasználódnak. A sziderofórok három fő típusba sorolhatók: a katekolátok magas vas-affinitású vegyületek, amelyek több fenolgyűrűt tartalmaznak, a hidroxamátok olyan peptidek, amelyek amidcsoportokkal kelátolják a vasat, míg a karboxilátok karboxilcsoportokat tartalmazó vegyületek, amelyek szintén képesek kelátképzésre (Ali és Vidhale, 2013).

A PGPR baktériumok megkötik a növény gyökérszónájában található Fe^{3+} ionok legnagyobb részét a sziderofórtermelés következtében, ezáltal gátolják a gombák és más kórokozó szervezetek szaporodását a növény közvetlen szomszédságában (Ambrosini és Passaglia, 2017; Beneduzi és mtsai., 2012; Miethke és Marahiel, 2007).

Számos tanulmány bebizonyította, hogy a növények képesek felvenni a sziderofórok által megkötött vasat (Sharma és mtsai., 2003; Vansuyt és mtsai., 2007; Yehuda és mtsai., 1996). Sziderofórt számos baktérium, pl. *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Azospirillum* és *Rhizobium* fajok (Saharan és Nehra, 2011), és gomba, pl. *Ch. cupreum* (Haruma és mtsai., 2022), *Ch. madrasense* (Wang és mtsai., 2023), *Ustilago sphaerogena* (Neilands, 1952), *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. longibrachiatum*, *T. viride* (Chen és mtsai., 2019; Farias és mtsai., 2018; Ghosh és mtsai., 2017; Usha és Padmavathi, 2015; Yadav és mtsai., 2017), *T. atroviride*, *T. virens*, *T. hamatum*, *T. paraviridescens*, *T. koningii*, *T. citrinoviride*, *T. simmonsii*, *T. atrobrunneum*, *T. guizhouense*, *T. tomentosum*, *T. crassum* (Chen és mtsai., 2019), *Aspergillus flavus*, *Asp. niger* (Usha és Padmavathi, 2015), *Pochonia*

chlamydosporia, *Purpureocillium lilacinum*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* (Farias és mtsai., 2018) képes termelni.

3.3.1.3. Extracelluláris enzimek termelése

Számos biokontroll mikroorganizmus termel különböző extracelluláris sejtfalbontó enzimet: glükánázt, kitinázt, proteázt és lipázt. Ezek az enzimek részt vesznek a fitopatogén mikroorganizmusok sejtfalának lebontásában (Cawoy és mtsai., 2011; Chandrasekaran és mtsai., 2012; Glick és Bashan, 1997).

A gombák sejtfala (beleértve a növényi kórokozókat is) glikoproteinekből, poliszacharidokból (kitin, β -1,3-, illetve β -1,6-glikozidos kötéseket tartalmazó glükánok) és egyéb komponensekből áll (Dimkić és mtsai., 2022; Santoyo és mtsai., 2021). A gombasejtfalban megtalálható kitin N-acetil-D-glükózamin egységekből álló, nem elágazó polimer, lebontását a kitináz enzimek (β -N-acetil-glükózaminidázok, endokitinázok és kitobiozidázok) végzik. A gombasejtfalat alkotó másik jelentős szénhidrát polimer az 1,3-glikozidos kötéseket tartalmazó β -glükán. Ennek lebontását a β -1,3-glükánáz enzimek végzik (Reddy és mtsai., 2022).

Számos baktérium termel kitinbontó enzimeket, például az *Aeromonas* sp., *Alcaligenes xylosoxydans*, *Bacillus* sp., *Chromobacterium* sp., *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella* sp., *Lactobacillus plantarum*, *Leucosporidium scottii*, *Paenibacillus* sp., *Streptomyces* sp., *Ps. fluorescens*, *Ps. aeruginosa*, *Ps. cepacia*, *Rhizobium* sp., *Serratia marcescens*, *Se. proteamaculans*. A *Bacillus* fajok közül kitinázokat termel a *B. amyloliquefaciens*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. thuringiensis* (Shrestha és mtsai., 2015; Berini és mtsai., 2018), *B. subtilis*, *B. safensis*, *B. pumilus* (Ghasemi és Ahmadian, 2010) és *B. velezensis* (Liu és mtsai., 2010; Sharma és mtsai., 2011), β -1,3-glükánázokat pedig többek között a *B. brevis*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. circulans* és *B. halodurans* törzsekből izoláltak (Planas, 2000). A fonalas gombák közül az *Agaricus*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Clonostachys*, *Conidiobolus*, *Isaria*, *Penicillium*, *Mucor*, *Neurospora*, *Trichoderma* (Singh és Seneviratne, 2017; Berini és mtsai., 2018; Sharma és mtsai., 2011) és *Chaetomium* (Liu és mtsai., 2008) fajok különböző kitinázokat termelnek, ezek többsége nélkülözhetetlen a mikoparazitizmushoz (Berini és mtsai., 2018).

A strukturális szénhidrátbontó enzimek, kulcsfontosságú szerepet játszanak a talaj szerves anyagainak lebontásában és tápanyagokká alakításában. Ezek az enzimek nemcsak közvetlenül biztosítanak könnyen felvehető tápanyagokat a növények számára, hanem

elősegítik a talaj mikrobiális közösségeinek aktivitását és szimbiotikus kapcsolataikat, ami összességében növeli a növények növekedését és ellenálló képességét (Singh és mtsai., 2020).

A cellulóz a növényi biomassza fő összetevője. A lignocellulóz biomassza szerkezetében a cellulóz főként hemicellulózzal és ligninnel társul. A cellulóz egy összetett szénhidrát, mely β -1-4-glükózidos kötésekkel kapcsolódó D-glükóz molekulákból áll. Lebontását a celluláz enzimszisztéma (cellobiohidrolázok, endoglükánázok, exoglükánázok és β -glükózidáz) végzi. Az endoglükánázok a cellulóz láncok belső β -1,4-glükózidos kötéseit bontják, így random pontokon hasítják a polimert, ami rövidebb cellulózláncok képződéséhez vezet. Az exoglükánázok a cellulóz láncok végeiről hasítanak le cellobióz egységeket, amelyek két glükózegységből állnak. Ezek az enzimek fokozatosan bontják a cellulóz végét, ami glükóz felszabadulásához vezet. A β -glükózidázok a cellobióz és más oligoszacharidok glükóz egységekre történő bontását végzik, így biztosítva a teljes cellulóz molekula lebontását szabad glükózzá (Reddy és mtsai., 2022). A cellulázok, amelyek a cellulóz és más sejtfalpolimerek lebontására specializálódtak, nemcsak a kórokozókkal (Oomycota) szembeni antagonizmusban játszanak fontos szerepet, hanem a növények endoszférájának kolonizációs képességében is (Darwish és Abdel-Azeem, 2020). A növényi maradványok mikrobiológiai lebontása azért jelentős, mert elősegíti a humuszképződést, valamint visszaszorítja a kórokozó gombák elterjedését (Reddy és mtsai., 2022).

A baktériumok és gombák széles köre képes cellulázt termelni: a baktériumok közül pl. a *Pseudomonas*, *Cellulomonas*, *Bacillus* (*B. agardherans*, *B. circulans*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. thuringiensis*, *B. pumilus*), *Brevibacillus*, *Micrococcus*, *Cellovibrio* és *Sporocytophaga*, *Pb. campinasensis*, a gombák közül pedig pl. az *Asp. niger*, *Sclerotium rolfsii*, *Penicillium* sp. (*Pen. funiculosum*, *Pen. pinophilum*), *Fusarium oxysporum*, *Humicola* sp. (*Hu. insolens*, *Hu. grisea*), *Gloeophyllum trabeum*, *Melanocarpus* sp., *Ch. thermophilum*, *Myceliophthora thermophila*, *Talaromyces emersonii* és *Thermoascus aurantiacus* (Singh és mtsai., 2020). Celluláz enzimaktivitással rendelkezik a *Trichoderma* nemzetség számos képviselője, pl. a *T. reesei*, *T. asperellum*, *T. paraviridescens*, *T. koningii*, *T. virens*, *T. atrobrunneum*, *T. simmonsii* és *T. atroviride* (Chen és mtsai., 2019). β -glükózidáz enzimet a gombák közül pl. a *Pen. brasilianum*, *Clonostachys rosea*, *Purpureocillium lilacinum* *Taifanglania* sp., *Asp. niger*, *T. harzianum*, (Asghar és Kataoka, 2022), a *T. asperellum*, *T. paraviridescens*, *T. koningii*, *T. virens*, *T. atrobrunneum*, *T. simmonsii* és *T. atroviride* (Chen és mtsai., 2019) termel.

A xilán egy szerkezeti poliszacharid, amely nagy mennyiségben jelenik meg az egyszikű növények elsődleges sejtfalában (Okeke és Lu, 2011). A xilanáz (endo- β -1,4-xilanáz) egy hidrolitikus enzim, amely nekrotizáló enzimátikus aktivitással rendelkezik, és kiválthatja a növény immunitását (Singh és mtsai., 2019).

A xilanázt különféle baktérium- és gombafajok termelhetik, a baktériumok közül a *Bacillus* fajok (*B. amyloliquifaciens*, *B. circulans*, *B. polymyxa*, *B. stearothermophilus*, *B. subtilis*), illetve az *Arthrobacter*, *Cellulomonas*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Staphylococcus*, *Thermotoga*, *Microbacterium*, *Pseudoxanthomonas* és *Rhodococcus* nemzetségek jelentős mennyiségű xilanázt termelnek (Okeke és Lu, 2011; Singh, Singh, és Pandey, 2019). A gombatörzsek közül az *Aspergillus* (*Asp. niger*, *Asp. foetidus*, *Asp. fumigatus*, *Asp. tubingensis*, *Asp. terreus*), *Fusarium*, *Penicillium*, *Geotrichum*, *Paecilomyces*, *Cephalosporium* és *Trichoderma* (*T. viride*, *T. citrinoviride*, *T. asperellum*, *T. paraviridescens*, *T. koningii*, *T. virens*, *T. atrobrunneum*, *T. simmonsii* és *T. atroviride*) fajok jól ismert xilanáztermelők (Chen és mtsai., 2019, Devi és mtsai., 2020; Singh, Singh, és Pandey 2019).

3.3.1.4. Mikofágia

A bakteriális mikofágia azt jelenti, hogy a baktériumok képesek tápanyagokat nyerni élő gombákból és ezek biomasszáját bakteriális biomasszává alakítani. Leveau és Preston (2008) a mikofágiát úgy definiálják, mint azon fenotípusos viselkedések összességét, amelyek lehetővé teszik a baktériumok számára, hogy élő gombákból táplálkozzanak. A cikk három stratégiát azonosít, amelyekkel a baktériumok tápanyagokat nyerhetnek a gombákból: a nekrotrófia, az extracelluláris biotrófia és az endocelluláris biotrófia. A nekrotrófia: a baktériumok enzimek vagy toxinok kiválasztásával elpusztítják a gombasejteket, amelyek lebontják a sejtfalat, így felszabadítva a tápanyagokat. Az extracelluláris biotrófia: a baktériumok szoros kapcsolatban élnek a gombákkal, gyakran a felszínükön, anélkül hogy megölnék őket, és a gombák által kibocsátott anyagokból táplálkoznak. Az endocelluláris biotrófia során baktériumok behatolnak az élő gombasejtekre, ott szaporodnak, és közvetlenül a gombák citoplazmájából nyerik a tápanyagokat (Leveau és Preston, 2008). A baktériumok a toxinokat használhatják elsődleges mechanizmusként a gombasejtek gátlására és elpusztítására, majd kitinázokat, lipázokat, glükánázokat és proteázokat használnak a gombapolimerek lebontására és asszimilálására, számos tanulmány kimutatta, hogy a sejtfalat lebontó exoenzimek szinergikusan hathatnak a bakteriális toxinokkal, hogy fokozzák a gombaellenes aktivitást (Woo és mtsai, 2002; Someya és mtsai, 2007).

A *Collimonas fungivorans* a legjobban tanulmányozott mikofág baktérium, de más baktériumok is ismertek ilyenek például a *Serratia marcescens* (Deveau és mtsai., 2018), *B. cereus*, *B. megaterium*, *B. thuringiensis*, *Pseudomonas* sp., *Ps. aeruginosa*, *Ps. stutzeri*, *Ps. tolaasii*, *Burkholderia* sp., *Paenibacillus* sp., *Staphylococcus aureus*, *Streptomyces albus* és *Streptomyces* spp. (Leveau és Preston, 2008).

3.3.2. Indukált szisztémás rezisztencia

A PGPM-ek szerepet játszanak az ISR kialakításában is. Az ISR egy lokális patogén infekció után a szalicilsav közvetítésével az egész növényre kiterjedő immunválasz, amely a későbbi fertőzés elleni védekezést növeli, és a fertőzés tüneteit csökkenti. A PGPM-ek által kiváltott ISR elicitorai természetesen mások, mint patogének esetén, mivel itt nem történik sejtlízis, a szalicilsav helyett az etilén és jázmonsav kap szerepet a jelátadásban (Jha és mtsai., 2012; Mercado-Flores és mtsai., 2014; Santoyo és mtsai., 2016).

A *Bacillus* nemzetség képviselői is részt vehetnek az ISR kialakításában, mint például a *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. pasteurii*, *B. cereus*, *B. pumilus*, *B. mycoides* és a *B. sphaericus* (Kloepper és mtsai., 2004; Raaijmakers és mtsai., 2010; Ryu és mtsai., 2004). A *Bacillus* fajoknál az etiléne és a jázmonsavon kívül egyes lipopeptidek, pl. a szurfaktin és a fengicin esetében megfigyelték, hogy szisztémás rezisztenciát válthatnak ki növényekben (Ongena és Jacques, 2008).

A *Bacillus* fajokhoz hasonlóan a *Pseudomonas* fajok is képesek szisztémás rezisztenciát indukálni a növényekben. Egy tanulmány beszámolt arról, hogy a *Ps. fluorescens*, és a *Ps. putida* képes megvédeni a növényeket az olyan kórokozóktól, mint a *Colletotrichum falcatum*, *Ceratocystis fagacearum* és *F. oxysporum* (Compant és mtsai., 2005). A *Pseudomonas* fajok esetében a jázmonsavon kívül a 2R,3R-butándiolról figyelték meg, hogy felelős az ISR kiváltásáért dohánynövényekben, valamint a 2R,3R-butándiol csak akkor váltott ki ISR-t, ha a kórokozó is jelen volt (Han és mtsai., 2006). A sziderofórok is részt vesznek az ISR kialakulásában. A *Pseudomonas* fajok esetében bizonyították, hogy a diffuzibilis, zöld-fluoreszcens pigmentek kiterjedt csoportjába tartozó pszeudobaktin (PSB), amelyet pyoverdinnak vagy fluoreszcinnak is neveznek (De Vleeschauwer és Höfte, 2009), képes ISR-t kiváltani. A *Ps. putida* által termelt PSB a növénykórokozó *Ralstonia solanacearum* baktériummal szemben *Eucalyptus urophylla* növényben (Ran és mtsai., 2005), a *Botrytis cinerea*-val szemben paradicsomban (Meziane és mtsai., 2005), az *Erwinia carotovora* ellen dohányban (Van Loon és mtsai., 2008) indukált szisztémás rezisztenciát.

A PGPF-csoportban több védekezést aktiváló tulajdonságú elicítort azonosítottak. Ide tartoznak az enzimatis fehéjék, mint például a xilanázok és cellulázok, de egyéb fehéjék és peptidek is (Pieterse és mtsa., 2014). A *Trichoderma* törzsek esetében megfigyelték, hogy kolonizálják a növények gyökereit, a hifák a gyökerek köré tekerednek és appreszóriumszerű struktúrákat alkotnak, behatolnak a gyökérekéregbe, és arra készíteti a környező növényi sejteket, hogy sejtfalat szintetizáljanak, és fenolos vegyületeket termeljenek (Shoresh, Harman és Mastouri 2010). Az ISR-t kiváltó biokontroll gombák közé tartoznak a *Trichoderma* (Gajera és mtsai., 2013; Koike és mtsai., 2001; Segarra és mtsai., 2009), *Fusarium* (Koike és mtsai., 2001), *Penicillium* (Elsharkawy és mtsai., 2012; Hossain és mtsai., 2007; Koike és mtsai., 2001), *Phoma* (Koike és mtsai., 2001) fajok és a *Ch. globosum* (Elshahawy és Khattab, 2022).

3.3.3. Tápanyag-mobilizálás

3.3.3.1. Nitrogén fixálás

A nitrogén elengedhetetlen a fehéjék (pl. enzimek, klorofill) és a nukleinsavak szintéziséhez, valamint szükséges a növény növekedéséhez (Hayat és mtsai., 2010). A talajban a nitrogén a növény által felvehető nitrit, nitrát és ammónia formájában csak kis mennyiségben van jelen. Az atmoszférikus N_2 -t a mikroorganizmusok kétféleképpen képesek fixálni, vannak szimbiotikus és szabadon élő mikroorganizmusok. A szimbiotikus N_2 -fixálók (pl. *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*) szimbiotikus kapcsolatot alakítanak ki a növények gyökereivel, úgynevezett gümőkötés hoznak létre egyes növények (pl. szója, borsó, földimogyoró, lucerna) gyökereiben, és ezeknek a gümőkötésnek a belsejében élnek (Lugtenberg és Kamilova, 2009). A légköri N_2 -t ammóniává alakítják, amelyet a növények képesek felhasználni. A szimbiotikus nitrogénkötés a gazdanövény növekedéséhez szükséges nitrogén 65%-át biztosítja (Hayat és mtsai., 2010). A szabadon élő nitrogénfixáló baktériumok laza kapcsolatot alakítanak ki a növényekkel (pl. búza, kukorica) és így segítik a nitrogén felvételét (Lugtenberg és Kamilova, 2009). Szabadon élő, nitrogén megkötésére képes baktériumfajok pl. az *Azospirillum*, *Azoarcus*, *Azotobacter* (Perez-Montano és mtsai., 2014), valamint *Acetobacter*, *Bacillus* és *Pseudomonas* nemzetségek egyes képviselői (Saharan és Nehra, 2011).

3.3.3.2. Foszformobilizálás

A foszfor a nitrogén után a második legfontosabb tápanyag a növények számára, amely korlátozza a haszonnövények növekedését és termését. A talajban nagy mennyiségben van jelen foszfor (400-1200 mg/kg talaj) apatit és fitát (inozitol-foszfát) formájában (Ahemad és Kibret, 2014; Glick, 2012), de ennek a legnagyobb része (szerves és szervetlen foszfor) a növények

számára felvehető formában van. A növények által felvehető mennyiség csupán 1 ppm vagy ennél is kevesebb (Hayat és mtsai., 2010). Az oldható foszfor mennyisége így limitálja a növény növekedését. A növények a foszfort HPO_4^{2-} és H_2PO_4^- formájában tudják felvenni. Sok talajmikroorganizmus rendelkezik azzal a képességgel, hogy a foszfor nem elérhető formáját a rendelkezésre álló formává oldja és/vagy a szerves foszfort a rendelkezésre álló foszforformává mineralizálja (Saxena és mtsai., 2020) savképző, kelátképző vagy enzimtermelő kapacitásának köszönhetően (Perez-Montano és mtsai., 2014). Bizonyos enzimek, mint például a foszfátáz, fitáz, C-P liáz képesek szerves molekulák bontására. Foszfomobilizálásra leginkább a *Bacillus*, *Pseudomonas* (Verma, Singh, és Gaur, 2016; Tagore és mtsai., 2013), *Azospirillum*, *Erwinia*, *Rhizobium*, *Serratia*, *Burkholderia* (Perez-Montano és mtsai., 2014), *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Enterobacter*, *Flavobacterium* és *Microbacterium* (Bhattacharyya és Jha, 2012) nemzetségek képviselői alkalmasak. A *Bacillus* fajok közül több faj képes a foszfor mobilizálására, mint például a *B. circulans*, *B. cereus*, *B. fusiformis*, *B. pumilus*, *B. megaterium*, *B. mycoides*, *B. coagulans*, *B. chitinolyticus*, *B. subtilis*, stb. (Sharma és mtsai., 2013). A gombák közül a *Ch. globosum* (Tarafdar és Gharu, 2006), *Acremonium* spp., *Asp. aculeatus*, *Asp. fumigatus*, *Asp. candidus*, *Asp. nidulans*, *Asp. wentii*, *Asp. sydowii*, *Asp. versicolor*, *Asp. niger*, *Candida krissi*, *Glomus aggregatum*, *Gl. clarum*, *Gl. geosporum*, *Hymenella* spp., *Mortierella* spp., *Mucor ramosissimus*, *Neosartorya* spp., *Pen. bilaiiae*, *Pen. brevicompactum*, *Pen. daleae*, *Pen. expansum*, *Pen. pinophilum*, *Pen. radicum*, *T. harzianum*, *T. virens*, *T. viride* (Khan és mtsai., 2010; Rawat és mtsai., 2021) fajok esetében tudósítottak hatékony foszfomobilizálásról.

3.3.4. Növényi hormonok termelése

A PGPM-ek képesek különböző növényi hormonok termelésére, melyek szabályozzák a növény növekedését és fejlődését. Ezek a hormonok szerves vegyületek, amelyek nagyon kis koncentrációban is képesek befolyásolni a növény élettani folyamatait (Hayat és mtsai., 2010; Miransari és Smith, 2014).

3.3.4.1. Indolecetsav (IES)

A PGPM-ek által termelt, növény-növekedést serkentő hormonok közül az auxin egyik természetes és fiziológiailag legaktívabb formája az indolecetsav (IES). Az auxin az egyik legfontosabb fitohormon, hiszen alapvető szabályozója a növény növekedésének és fejlődésének. Számos más fejlődési esemény mellett fontos szerepet játszik a sejtek megnyúlásának, a sejtek osztódásának és differenciálódásnak, a gyökérindításnak és az apikális dominanciának a szabályozásában. Emellett szerepe van a növények abiotikus és biotikus stresszválaszában is (Mohite, 2013). A növények az auxin által válaszolni tudnak a kedvezőtlen

környezeti hatásokra (Khan és mtsai., 2016). Az auxin és az auxinnal kapcsolatos gének különböző útvonalakban vesznek részt és az abiotikus stresszhatások következtében expresszálnak. A reaktív oxigéngyökök miatt károsodik a sejtek szerkezete és élettani funkciója. Ezeknél a folyamatoknál megjelenik az auxin, mely által módosulnak a redox-útvonalak, továbbá az auxin képes morfológiai választ adni a stresszre azáltal, hogy szabályozza a gyökérfejlődést (Pandey, 2014). A gyökérszónából izolált baktériumok 80%-a képes indol-3-ecetsavat termelni (Gupta és mtsai., 2015; Hayat és mtsai., 2010). IES termelésére képes baktériumfajok például a *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *Azotobacter* spp. (Bhattacharyya és Jha, 2012), *Paenibacillus* spp. (Bouizgarne, 2013), *Pseudomonas* spp. (Tsakelova és mtsai., 2007). Habár az indolecetsavat elsősorban növényi hormonként tartják számon, a mikroorganizmusok fejlődésében is regulátor szerepet tölthet be (Bianco és mtsai., 2014). Az auxinszintézis prekursora a triptofán, és már 1 µg/mL-es koncentráció is elegendő ahhoz, hogy indukálja az indolecetsav termelést (Tien és mtsai., 1979).

Számos PGPF képes fitohormonok termelésére, például az *Aspergillus*, *Mortierella*, *Talaromyces*, *Fusarium*, *Penicillium* és *Trichoderma* fajok gibberellin és IES termeléséről számoltak be (Syamsia és mtsai., 2021). IES-termelésre képes továbbá a *T. aureoviride*, *Pen. citrinum*, *Asp. niger* (Sarkar és mtsai., 2022), *Chaetomium* sp., *Ch. globosum* (Khan és mtsai., 2012; Tian és mtsai., 2022)

3.3.4.2. Abszcizinsav (ABS)

Az indolecetsav mellett más növényi hormonok is jelentősek. Az abszcizinsav (ABS) egy olyan növényi hormon, amelyet a növények stresszhelyzetekre adott válaszként szintetizálnak. Az ABS növeli a gyökér hidraulikus konduktivitását és az ionfelvételt, indukálja a gyökér növekedését, serkenti az oldalgyökerek képződését, ugyanakkor gátolja a levél növekedését, a magvak csírázását, a levelek és gyümölcsök leválását, továbbá zárja a sztómákat (Sah és mtsai., 2016). Abiotikus stressz hatására bizonyos baktériumok képesek ABS-t szintetizálni vagy átalakítani a talajoldatból felvett ABS-t, ami az ABS koncentrációját csökkentheti a növényekben. A PGPR-ek befolyásolhatják az ABS szintjét a növényekben, ami segíthet a sztóma konduktancia szabályozásában, ezáltal javítva a növény növekedését és stressz-tűrőképességét (Belimov és mtsai., 2014). Korábbi tanulmányok kimutatták, hogy a PGPR-k javítják a növények abiotikus stresszekkel szembeni ellenálló képességét (Shahzad és mtsai., 2013), ilyen fajok az *Azospirillum brasilense* (Cohen és mtsai., 2015), *Herbaspirillum seropedicae* (Curá és mtsai., 2017), *B. licheniformis*, *Ps. fluorescens* (Salomon és mtsai., 2014),

B. subtilis, *Arthrobacter protophormiae* (Barnawal és mtsai., 2017), *Ps. putida*, *Novosphingobium* sp. (Vives-Peris és mtsai., 2018).

3.3.4.3. Etilén

Az etilén egy gáznemű fitohormon (Wani és mtsai., 2016), mely szabályozza a növények növekedését és öregedését. Elősegítheti vagy gátolhatja is ezen folyamatokat attól függően, hogy milyen koncentrációban termelődik (Iqbal és mtsai., 2017). Feltehetően minden baktériumfaj szintetizál etilént, azonban ha túl magas az etilénkoncentráció, akkor ez gátolja a növény csírázását és a gyökerek megnyúlását. Ezért van az, hogy számos PGPR baktérium azáltal segíti elő a növény növekedését, hogy lecsökkenti az etilén koncentrációt (Hayat és mtsai., 2010).

3.3.4.4. Citokinin

A citokinin a másik fontos növényi hormon, amely általában nagyon kis mennyiségben van jelen. A citokininek részt vesznek a sejtek osztódásának és differenciálódásának fenntartásában, valamint megakadályozzák a levél korai öregedését (Schmülling, 2002; Egamberdieva és mtsai., 2017). A rizoszférában található mikroorganizmusok 90%-a képes citokinint termelni (Hayat és mtsai., 2010), mint például az *Azotobacter* spp., *Rhizobium* spp., *Pantoea agglomerans*, *Rhodospirillum rubrum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* és a *Paenibacillus polymyxa* (Glick, 2012).

3.3.4.5. Gibberellin

A gibberellinek a magfejlődésben, a növények szárának megnyúlásában és a virágzási idő szabályozásában vesznek részt (Santner és mtsai., 2009). Gibberellin termelésére képes baktériumfajok az *Azospirillum* nemzetségbe tartoznak (Bhattacharyya és Jha, 2012).

3.4. *Armillaria* elleni védekezés baktériumokkal

Az *Armillaria* elleni biológiai védekezésre leginkább *Trichoderma* törzseket vizsgáltak (Poveda és mtsai., 2024), a baktériumok kevesebb hangsúlyt kaptak, de néhány tanulmány vizsgálta a baktériumok *Armillaria* törzsek növekedésére gyakorolt gátló hatását.

Dumas (1992) ontarioi vegyes erdő gyökérmentes talajából *Ps. fluorescens*, *Pseudomonas* sp., *Bacillus* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp. és *Rhizobium radiobacter* (korábban *Agrobacterium tumefaciens*) baktériumtörzseket izoláltak és megállapították, hogy *in vitro* képesek gátolni az *A. ostoyae* és az *A. gallica* növekedését és rizomorfaképzését. A *Ps. fluorescens*, *Bacillus* spp. és *R. radiobacter* izolátumai voltak a rizomorfánövekedés

leghatékonyabb gátlói. De Long és munkatársai (2002) nyír- és Douglas-fenyő állományok talajából izolált *Ps. fluorescens* baktériumtörzsek potenciális antagonista viselkedését, valamint az *Armillaria*-ra fogékony fafajokkal való lehetséges kapcsolatukat vizsgálták, és megállapították, hogy a nyír a baktériumoknak kedvezőbb környezetet biztosít, mint a Douglas-fenyő, valamint a *Ps. fluorescens* baktériumok pozitívan befolyásolják a kezelt erdőállományok *Armillaria* gyökérbetegségeire való fogékonyságát. A *Ps. fluorescens* baktériumok számos izolátuma szignifikánsan csökkentette az *A. ostoyae* növekedését nyír, Douglas-fenyő és kevert nyír - Douglas-fenyő állományokban. Az izolátumok nagy része több mint 20%-kal csökkentette az *A. ostoyae* radiális növekedését, és több mint 90%-kal csökkentették a gomba biomasszáját a kettős tenyésztési tesztekben. A baktériumtenyészet táptalajhoz adott, sejtmentes szűrlete szintén csökkentette az *A. ostoyae* növekedését (DeLong és mtsai., 2002). Maier és munkatársai (2004) Gram-pozitív talajbaktériumokat izoláltak légyölő galóca (*Amanita muscaria*) termőtestekben gazdag lucfenyő rizoszférájából, és vizsgálták a baktériumizolátumok gombahifák növekedésére gyakorolt hatását. Néhány baktériumtörzs jelentősen elősegítette a légyölő galóca hifáinak növekedését, és ezen törzsek közül az egyikről (*Streptomyces laceyi*) kimutatták, hogy emellett gátolja az olyan patogén gombák növekedését, mint az *Armillaria obscura* és a *Heterobasidion annosum* (Maier és mtsai., 2004).

De Vasconcellos és Cardoso (2009) szintén a *Streptomyces* fajok *Armillaria* növekedésére gyakorolt hatását vizsgálták, és megállapították, hogy az összes vizsgált *Streptomyces* sp. izolátum képes volt gátolni a rizomorfaképződést, valamint az egyik izolátum megkésztette a keleti sárgafenyő (*Pinus taedae*) növekedését. Pellegrini és munkatársai (2013) 158 különböző gomba- és baktériumtörzs biokontroll-potenciálját vizsgálták az *A. mellea*-val szemben. Megállapították, hogy az összes vizsgált baktérium 12%-a volt teljesen hatástalan az *A. mellea* fejlődésének szabályozásában, és csak 2%-uk volt képes gátolni az *A. mellea* fejlődését körülbelül 65%-os mértékben. A leghatékonyabb baktériumok a *Bacillus* és *Pseudomonas* nemzetségekbe tartoznak, mint pl. a *Ps. cichorii* (Pellegrini és mtsai., 2013). Mesanza és munkatársai (2016) szintén azt figyelték meg, hogy az *A. mellea* gátlására legalkalmasabb nemzetségek a *Pseudomonas* és a *Bacillus*, közülük is a *Ps. fluorescens* és a *B. simplex*, valamint két *Erwinia billingiae* törzs. Az *A. mellea* fertőzés gátlását *Pinus radiata*-n vizsgálták. Az *A. mellea* fertőzést követően a baktériummal nem kezelt palánták 54%-a pusztult el, míg a *Ps. fluorescens*-szel, *B. simplex*-szel és a két *E. billingiae* törzsszel kezelt palántáknál az elpusztult növények aránya rendre 7,1%, 3,6% és 11,6% volt (Mesanza és mtsai., 2016). Zhang és munkatársai (2022) nyárfa xilémből izolált endofita *B. velezensis* BY6 hatását vizsgálták *A. solidipes*-szel fertőzött *Populus davidiana* × *Populus alba* var. *pyramidalis*

palánták növekedésére. Eredményeik alapján a növény növekedési mutatói szignifikánsan megnövekedtek, és aktiválódtak az auxin hormonszignál transzkripciójával kapcsolatos gének. A fertőzött kontrollcsoporthoz képest a kezelt csoportban a beteg nyárfacsemeték betegségi indexe 49,53%-kal csökkent a 20. napon (Zhang és mtsai., 2022).

3.5. *Armillaria* elleni védekezés gombákkal

Az *Armillaria* elleni biológiai védekezésre leginkább a *Trichoderma* nemzetség képviselőit vizsgálták, számos tanulmány foglalkozik ezzel a témával (Kedves és mtsai., 2021a; Poveda, Millen, és Bailey 2024). A leggyakrabban alkalmazott *Trichoderma* fajok a *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. viride*, *T. atroviride* és *T. atrobrunneum* voltak. A *Trichoderma* fajok mellett azonban számos más gombafaj alkalmas lehet az *Armillaria* elleni védekezésre, például a *Penicillium adametzii* (Kwasna, 2001; Szwajkowska-Michałek és mtsai., 2012), a *Hypomyces rosellus*, a *Chaetomium olivaceum* (Raziq és Fox, 2003), valamint az entomopatogén *Beauveria bassiana* (Zimmermann, 2007), melynek egy törzse már kereskedelmi használatra is engedélyezett.

Raziq és Fox (2005) különböző gombák kombinációjának hatékonyságát vizsgálták az *A. mellea* gyökérrothadást okozó kórokozóval szemben cserepes kísérletben földieper növényeken. A *T. harzianum* két izolátumát (Th1 és Th2) külön-külön és kombinációban vizsgálták *Dactylium dendroides*, *T. viride*, *T. hamatum* és *Chaetomium olivaceum* gombákkal. Az összes *A. mellea*-val fertőzött, kezeletlen növény a kísérlet végére elpusztult, míg a gombakezelések kombinációinak hatására a növények 50%-a túlélte (Raziq és Fox, 2005). Egy korábbi tanulmányban azt is megfigyelték, hogy a *Ch. olivaceum in vitro* hatástalan az *A. mellea* ellen, de *in vivo* hatásosnak bizonyult (Raziq és Fox, 2004).

4. CÉLKITŰZÉSEK

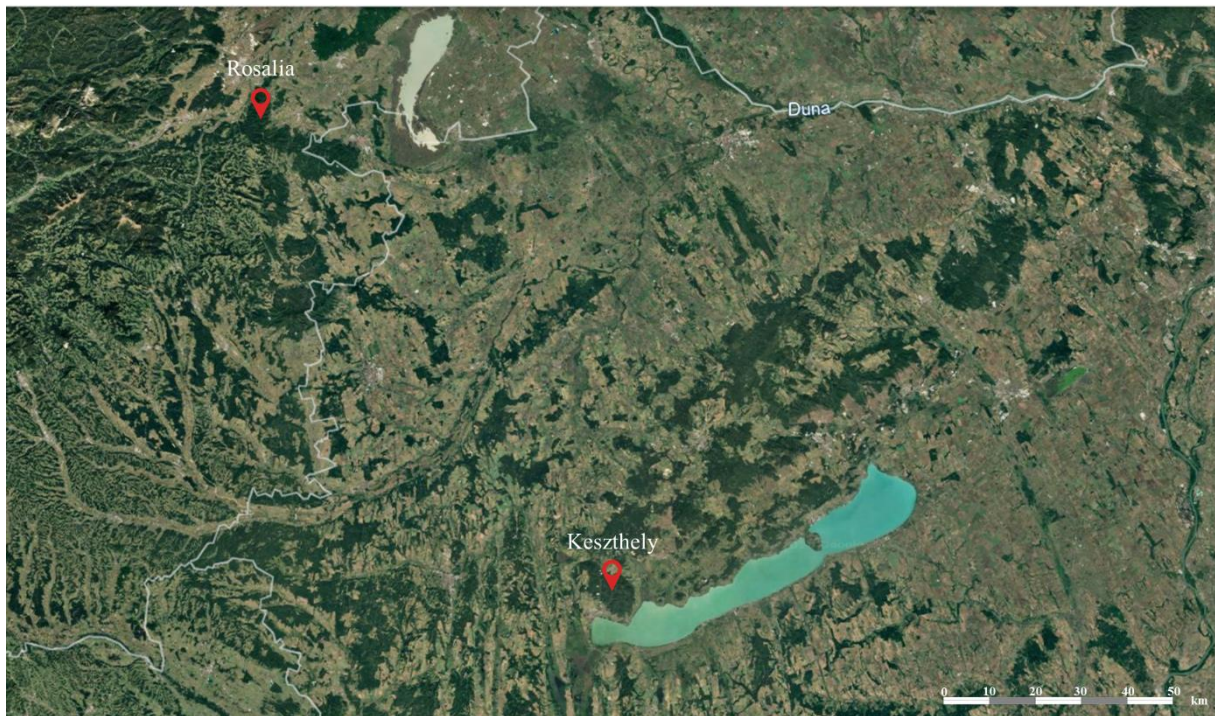
Munkánk célja olyan mikroorganizmusok izolálása, jellemzése és szelektálása volt, amelyek alkalmazhatóak az *Armillaria* gyökérrothadás elleni védekezésben, képesek elősegíteni a növények növekedését és javítani a növények életképességét. Célunkat az alábbi feladatok megvalósításával kívántuk elérni:

- *Armillaria* törzsek pusztuló és tünetmentes erdei élőhelyekről történő izolálása és azonosítása.
- *Armillaria* fajok elleni potenciális biokontroll baktériumok izolálása és azonosítása.
- Egyéb biokontroll potenciállal rendelkező gombák szelektálása, azonosítása és taxonómiai elemzése.
- Az izolált baktérium- és gombatörzsek *in vitro* antagonista aktivitásának felmérése *Armillaria* fajokkal szemben.
- Az antagonizmus mechanizmusának vizsgálata pásztázó elektronmikroszkóppal, a mikroorganizmusok közötti fizikai interakciók, sejt-falkárosodások, extracelluláris struktúrák, antimikrobiális metabolitok hatásainak és a parazitizmus jeleinek megfigyelése.
- A biokontroll ágensek által termelt antifungális enzimek és szekunder metabolitok termelésének vizsgálata: kitináz enzim termelése, sziderofórtermelés, a *Bacillus* törzsek esetében lipopeptid-termelés.
- Az izolált törzsek növekedésserkentő tulajdonságainak felmérése: extracelluláris enzimek (celluláz, β -glükózidáz, xilanáz) termelése, indolecetsav-termelés, foszformobilizálás felmérése. A baktériumtörzsek fenyőmagok csírázására gyakorolt hatásának vizsgálata.

5. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

5.1. *Armillaria* és a potenciális biokontroll mikroorganizmusok izolálása és azonosítása

A talaj-, termőtest- és rizomorfa-mintákat két különböző helyszínről gyűjtöttük. Északnyugat-Magyarországon a Keszthelyi-hegységben egy tölgyfaerdőből, ahol az *Armillaria* fajok súlyos károkat okoztak, és Északkelet-Ausztriában, a Rosalia-hegységben egy egészséges fenyőerdőből, ahol nem voltak látható jelei *Armillaria* fertőzésnek (3. ábra).



3. ábra. A két mintavételi terület: a keszthelyi (Magyarország) tölgyerdő, amely *Armillaria* által súlyosan károsított, és a rosaliai (Ausztria) egészséges fenyőerdő.

5.1.1. *Armillaria* törzsek izolálása és azonosítása

A tiszta *Armillaria* tenyészetek készítését termőtestekből és rizomorfákból steril körülmények között vett gombaszövetmintákból kiindulva kezdtük meg. A rizomorfák esetében szükség volt a talajrészecskék teljes eltávolítására és a tiszta rizomorfák intenzív felszíni fertőtlenítésére. A frissen gyűjtött rizomorfák fertőtlenítésének első lépése a melegvizes mosás (7× rázás és öblítés), ezt követte 20%-os Clorox-ban (Clorox Company, Kalifornia, USA) történő áztatás 7-10 percre, ezután háromszor átmostuk steril desztillált vízzel, majd 3%-os hidrogén-peroxidban áztattuk 7-10 percre. Ezt követően egy újabb steril desztillált vizes mosás következett, majd a rizomorfákat steril eszközökkel 1 cm-es darabokra vágtuk. Ezt követően a sterilen vett gombaszöveteket antibiotikumot tartalmazó MEA (20 g/L maláta kivonat, 19 g/L agar, 25 mg/L benomil (VWR International, Debrecen, Magyarország)

és 250 mg/L sztreptomycin Sigma Aldrich, Schnellendorf, Németország) táptalajra helyeztük. A leoltás után 22 °C-on, 3-4 hétig sötétben inkubáltuk a tenyészeteket. A kinőtt tiszta tenyészeteket még legalább kétszer átoltottuk szelektív táptalajra, majd burgonyadextróz agarra (PDA, VWR International, Debrecen, Magyarország) oltottuk.

Az *Armillaria* törzsek fajszintű azonosításához a genomi DNS kivonását a Fungal DNA Mini Kit D3390-02 (VWR International, Debrecen, Magyarország) segítségével végeztük a gyártó utasításainak megfelelően. A translációs elongációs faktor 1- α gén (*tef 1- α*) (Ross-Davis és mtsai., 2012) egy diagnosztikus szakaszának amplifikálásához a TEF-LLerev és EF1-728F indító szekvenciákat (primereket) alkalmaztuk (1. táblázat). A PCR-elegyek összetétele a következő volt (20 μ L végtérfogatra számolva) 2 μ L 10 \times DreamTaq-puffer 20 mM MgCl₂-dal, 2 μ L 2 mM dNTP mix, 4-4 μ L mindegyik primerből (1 μ M), 7 μ L steril bidesztillált víz, 0,1 μ L 5 U/ μ L DreamTaq DNS-polimeráz (Thermo Fischer Scientific, Vilnius, Litvánia), 1 μ L (10 μ M) genomi DNS-templát. A felszaporításhoz Doppio Gradient 2 \times 48 lyukú PCR (VWR, Debrecen, Magyarország) készüléket alkalmaztunk az 1. táblázatban feltüntetett hőmérsékleti profil beállításával.

A DNS-fragmentumok ellenőrzését agaróz gélelektroforézis segítségével végeztük. A DNS-mintákhoz mintafelvívő puffert (6 \times LD puffer, Thermo Fisher Scientific, Vilnius, Litvánia) adtunk, majd 1%-os agaróz gélben (VWR, Debrecen, Magyarország) 90 V-os feszültségen 20 percig futtattuk. Az agaróz gél elkészítéséhez és futtató pufferként is TAE puffert (40 mM Tris-ecetsav (pH 7,6) 1 mM Na₂EDTA oldatban) használtunk. A fragmentumok láthatóvá tételéhez etídium-bromidos (0,5 μ g/mL, Sigma-Aldrich, Budapest, Magyarország) festést alkalmaztunk. A fragmentumok méretének meghatározásához 1 kb-os molekulásúly markert (Thermo Fisher Scientific, Vilnius, Litvánia) használtunk. A gélek kiértékeléséhez az UVP BioDoc-It™ System UV Transilluminator (VWR, Debrecen, Magyarország) készüléket alkalmaztuk.

A PCR termékeket NucleoSpin™ Gel & PCR Clean-up Kit (Macherey-Nagel, Düren, Németország) segítségével tisztítottuk. Az amplifikált PCR-termékek szekvenálását a Szegedi Biológiai Kutatóközpont szekvenáló platformja végezte. A kapott szekvenciákat feltöltöttük a National Center for Biotechnology Information (NCBI) (ncbi.nlm.nih.gov) Nucleotide adatbázisába és a Nucleotide BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov> (blastp)) program segítségével elemeztük.

1. táblázat: Fajszintű azonosításra használt, amplifikált génszakaszok, alkalmazott primerek és PCR hőmérséklet profilja.

Gén	Indítószekvencia	PCR-paraméterek
<i>tefla</i>	EF1-728F: CATCGAGAAGTTCGAGAAGG TEF1-LLErev: AACTTGCAGGCAATGTGG	94 °C 5 p 94 °C 30 mp 57 °C 30 mp 72 °C 90 mp 72 °C 7 p } 40 ciklus
ITS	ITS1: TCCGTAGGTGAACCTGCGG ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATGC	94 °C 2 p 94 °C 30 mp 48 °C 40 mp 72 °C 40 mp 72 °C 2 p } 35 ciklus
<i>tub2</i>	BT2a: GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC BT2b: ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC	94 °C 2 min 94 °C 30 mp 55 °C 30 mp 72 °C 45 mp 72 °C 7 p } 35 ciklus
<i>rpb2</i>	RPB2 5F_Eur: GAYGAYCGKGAYCAYTTCGG RPB2 7CR_Eur: CCCATRGCYTYTTRCCCAT	94 °C 5 p 94 °C 45 mp 60 °C 45 mp 72 °C 2 p } 5 ciklus
		94 °C 45 mp 58 °C 45 mp 72 °C 2 } 5 ciklus
<i>gyrA</i>	gyrAF: CAGTCAGGAAATGCGTACGTCCTT gyrAR: CAAGGTAATGCTCCAGGCATTGCT	94 °C 45 mp 54 °C 45 mp 72 °C 2 p } 30 ciklus
		72 °C 7 p
<i>rpoB</i>	rpoBF: AGGTCAACTAGTTCAGTATGGACG rpoBRO: GTCCTACATTGGCAAGATCGTATC	94 °C 2 p 94 °C 30 mp 53 °C 45 mp 72 °C 1 p } 30 ciklus
		72 °C 5 p
<i>rpoB</i>	rpoB-PSF: AGTTCATGGACCAGAACAACC rpoB-PAR: CCTTCACGGTGAATTCGTTT	94 °C 2 p 94 °C 30 mp 57 °C 30 mp 72 °C 1 p } 30 ciklus
		72 °C 5 p
<i>rpoB</i>	rpoB-PSF: AGTTCATGGACCAGAACAACC rpoB-PAR: CCTTCACGGTGAATTCGTTT	94 °C 3 p 94 °C 1 p 55 °C 1 p 72 °C 1 p } 30 ciklus
		72 °C 10 p
16S rRNS	341f: AGTTCATGGACCAGAACAACC 1060r: CCTTCACGGTGAATTCGTTT	94 °C 3 p 94 °C 1 p 55 °C 1 p 72 °C 1 p } 30 ciklus
		72 °C 10 p

5.1.2. *Armillaria* fajok morfológiai vizsgálata pásztázó elektronmikroszkóppal

Az *Armillaria* törzseket PDA táptalajra oltottuk le és három hétig sötétben, 22 °C-on inkubáltuk, egyes fajok telepeinek és rizomorfiáinak morfológiai vizsgálatát pásztázó elektronmikroszkóp (scanning electron microscope - SEM) alkalmazásával végeztük. Az elektronmikroszkópos vizsgálatokhoz a mintákat 2,5%-os glutáraldehid-tartalmú 0,1 M-os foszfát puffer oldatban (pH=7,3) stabilizáltuk (12 óra, 4 °C). Ezt követően a mintákat etanol-víz elegyben dehidratáltuk, az etanol térfogatának arányát fokozatosan növelve (50 v/v %, 60 v/v %, 70 v/v %, 80 v/v %, 90 v/v %, 95 v/v %, 100 v/v %). Végül a mintákat szárítottuk (3 óra, 30 °C) és arannyal vontuk be a mikroszkópos vizsgálatokhoz. Az elektronmikroszkópos felvételeket 10 kV gyorsító feszültségen, Hitachi S-4700 Type II FE- SEM (Hitachi High Technologies, USA) mikroszkóppal készítettük (Kedves és mtsai., 2019).

5.1.3. Potenciális biokontroll baktériumtörzsek izolálása és azonosítása

Mivel a szakirodalmi adatok alapján a növénykórokozó gombák elleni biológiai védekezésre a legígéretesebb baktériumok a *Bacillus* és a *Pseudomonas* nemzetségek képviselői közül kerülnek ki (Beneduzi és mtsai., 2012; Haas és Défago, 2005) az alkalmazott baktériumizolálási stratégia során elsősorban ezen a mikrobacsoportok izolálását céloztuk meg. A baktériumok izolálásának céljára kétféle táptalajt alkalmaztunk.

A *Bacillus* törzsek és egyéb baktériumok izolálására alkalmazott szelektív táptalaj 5 g/L glükózt, 3 g/L élesztőkivonatot és 20 g/L agart tartalmazott, melyhez sterilizálás után dimetilszulfoxidban (DMSO) oldott 300 µg/L nisztatint (VWR, Debrecen, Magyarország) és 300 µg/L karbendazimot (VWR, Debrecen, Magyarország) adtunk.

A *Pseudomonas* törzsek izolálására alkalmazott *Pseudomonas*-szelektív táptalajt (10 g/L szacharóz, 10 mL/L glicerin, 5 g/L kazaminosav, 1 g/L NaHCO₃, 1 g/L MgSO₄, 2,3 g/L K₂HPO₄, 1,2 g/L SLS (nátrium-lauril-szarkozinát), 20 g/L agar, 20 mg/L trimetoprim (VWR, Debrecen, Magyarország) sterilizálás után a táptalajban oldva használtunk.

A baktériumok izolálásához 0,5 g talajmintát, illetve 1 cm-es rizomorfa-darabokat 5 mL 0,9%-os NaCl-oldatban szuszpendáltunk, a kapott szuszpenzióból tízes léptékű, négylépcsős hígítási sort készítettünk steril, 0,9%-os NaCl oldatban, majd a szelektív táptalajokra oltottuk le. A *Bacillus* törzsek izolálásához a talajszuszpenziókat 90 °C-on 15 percig inkubáltuk (Büchner és mtsai., 2022). A hígítási sorokból 50-50 µL-t szélesztettünk a táptalajokra. Hígítási soronként az utolsó két lépcsőből három technikai párhuzamosban dolgoztunk, a leoltott

lemezek felszínét sterilfűlkében leszárítottuk, majd 25 °C-on 3 napig inkubáltuk a leoltott csészéket.

A baktériumtörzsek molekuláris vizsgálatához a genomi DNS kivonását az E.Z.N.A.® Bacterial DNA Kit (Omega Bio-tek, Inc., Norcross, GA, USA) felhasználásával végeztük a gyártó utasításai szerint.

A *Pseudomonas* izolátumok azonosítására az RNS-polimeráz B (*rpoB*) génre tervezett indítoszekvenciákkal dolgoztunk (*rpoB*-PSF és *rpoB*-PAR, 1. táblázat) (Sajben és mtsai., 2011), melyek 410 bázispár méretű szakaszt amplifikálnak. A PCR-elegyek összetétele a következő volt (20 µL végtérfogatra számolva) 2 µL 10× DreamTaq-puffer 20 mM MgCl₂-dal, 2 µL 2 mM dNTP mix, 4-4 µL mindegyik primerből (100 µM), 7 µL steril bidesztillált víz, 0,1 µL 5 U/µL DreamTaq DNS-polimeráz, és 1 µL (10 µM) genomi DNS-templát. Az agaróz gélelektroforézis, valamint az agarózgélek kiértékelése és a fajok azonosítása az 5.1.1. szakaszban leírtaknak megfelelően történt.

A *Bacillus* és egyéb baktériumtörzsek szekvenciaalapú azonosítása céljára a 16S riboszómális RNS, az RNS-polimeráz B (*rpoB*) (Fan és mtsai., 2017) és a DNS-giráz α alegység (*gyrA*) (Liu és mtsai., 2022) (1. táblázat) génszakaszait amplifikáltuk. A PCR-elegyek összetétele a következő volt (25 µL-re): 2,5 µL 10× DreamTaq-polimeráz puffer, 200 µM dNTP mix, 0,25 µM primer, 1 egység DreamTaq-polimeráz enzim és 1 µL (10 µM) genomi DNS-templát. Az amplifikálást Doppio Gradient 2 × 48 lyukú PCR készülékkel végeztük az 1. táblázatban feltüntetett hőmérsékleti profil alkalmazásával. Az agaróz gélelektroforézis, valamint az agarózgélek kiértékelése és a fajok azonosítása az 5.1.1. szakaszban leírtaknak megfelelően történt.

5.1.4. Egyéb potenciális biokontroll mikroorganizmusok szelektálása és azonosítása

Szakirodalmi adatok alapján a *Chaetomium* fajok ígéretes gombatörzsek az *Armillaria* fajok elleni biológiai védekezésre (Raziq és Fox, 2003, 2004), ezért a Szegedi Biológiai Törzsgyűjteményben (www.szmc.hu) elhelyezett *Chaetomium*- és *Chaetomium*-szerű törzseket vizsgáltuk. A törzsgyűjteményben található *Chaetomium*- és *Chaetomium*-szerű törzsek finnországi iskolákból, lakásokból, irodákból, valamint magyarországi üzletekből, házakból, lakásokból és irodákból lettek izolálva (Függelék ,1. táblázat). A finnországi mintákat parafa és ásványgyapot szigetelésről, valamint porból gyűjtötték össze mintavevő pálcákkal. A mintákat 2%-os malátakivonatos agaron tenyésztették, melyet légáteresztő szalaggal zártak le, hogy

lassítsák a nedvességvesztést a 2-4 hetes tenyésztés során, mely 30-40% relatív páratartalom mellett és 22-24 °C hőmérsékleten történt (Salo és mtsai., 2020).

A magyarországi izolátumok esetében a mintavétel házi porból, valamint falakról történt, olyan helyekről, ahol a gombatelepek láthatóak voltak, vagy Greisinger GMI 15 (GHM Messtechnik GmbH, Remscheid, Németország) nedvességmérővel detektált nedves felületekről. A minták közvetlenül klóramfenikolt (VWR, Debrecen, Magyarország) tartalmazó 2%-os MEA agarra, illetve diklorán - bengálrózsa klorámfenikol agarra (VWR, Debrecen, Magyarország) kerültek leoltásra (Kedves és mtsai., 2021b). A levegőben lévő gombák összegyűjtéséhez 100 L térfogatú levegőmintát gyűjtöttek 150 cm magasságban 400 lyukú egyrétegű Andersen mintavevőkkel (Andersen, 1958) (MAS 100, EMD Millipore, Merck, Darmstadt, Németország; SAS IAQ, International PBI SpA, Milánó, Olaszország; Samp l'Air MK2, AES Chemunex, Bruz, Franciaország), 100 L/perc áramlással MEA táptalajra. A mintavételek között az eszközöket etanollal sterilizálták. A mintákat 22 °C-on, 5-7 napig sötétben inkubálták, az izolált gombák növekedési intenzitásától függően. Az izolált tiszta tenyészeteket a Szegedi Mikrobiológiai Törzsgyűjteményben (SZMC, www.szmc.hu) helyezték el.

A tiszta gombatenyészeteket 7 napig szobahőmérsékleten inkubáltuk 2% (w/v) MEA táptalajon. Ezután a gombákból a genomi DNS-kivonását az E.Z.N.A.®Fungal DNS Mini Kit alkalmazásával végeztük, a gyártó utasításainak megfelelően. A kivont genomi DNS-t PCR-rel amplifikáltuk az 1. táblázatban feltüntetett indítószekvenciák és amplifikációs profilok alkalmazásával. A molekuláris azonosításokat a transzlációs elongációs faktor 1 α (*tefl α*), az RNS polimeráz II legnagyobb és második legnagyobb alegysége (*rpb2*) és a β -tubulin (*tub2*) gének fragmentumainak, valamint a riboszomális RNS géncsoport köztes átíródo elválasztó (internal transcribed spacer, ITS) (Wang és mtsai., 2016) régiójának szekvenálásával végeztük az 5.1.1. szakaszban leírtak alapján. A 20 μ L PCR-elegyek az alábbiakat tartalmazták: 2 μ L 10 \times DreamTaq-puffer 20 mM MgCl₂-dal, 2 μ L 2 mM dNTP mix, 4-4 μ L mindegyik primerből (100 μ M), 7 μ L steril bidesztillált víz, 0,1 μ L 5 U/ μ L DreamTaq DNS-polimeráz és 1 μ L (10 μ M) genomi DNS-templát. Az amplifikálást Doppio Gradient 2 \times 48 lyukú PCR készülékkel végeztük az 1. táblázatban bemutatott amplifikációs profilok szerint. A PCR termékeket NucleoSpinTM Gel és PCR Clean-up Kit segítségével tisztítottuk, a gyártó utasításait követve.

A szekvenálást az Eurofins Genomics szekvenáló szolgáltató végezte számunkra (<http://www.eurofinsgenomics.com>). A kapott szekvenciákat feltöltöttük a National Center for Biotechnology Information (ncbi.nlm.nih.gov) Nucleotide adatbázisába. A filogenetikai

elemzésekhez alkalmazott referenciatörzsek szekvenciáit az NCBI Nucleotide adatbázisából (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>) töltöttük le (Függelék, 1. táblázat).

A két *Dichotomopilus* izolátum szekvenciáit korábban már leírt 12 *Dichotomopilus* és 11 *Chaetomium* faj nyilvánosan hozzáférhető szekvenciáihoz illesztettük. A filogenetikai elemzéseket négy lókuszt (ITS, *tefla*, *rpb2* és *tub2*) a Prank v170427 programban illesztettük (Löytynoja, 2014). A *tefla* és *rpb2* szekvenciákat két külön részként határoztuk meg, míg a *tub2* adatkészletet exonokra és intronokra osztottuk. Az ITS adatkészletet rDNS és ITS1-ITS2 régiókra osztottuk. A *tub2* és az ITS adatkészletek illesztései viszonylag nagyszámú indelt (indelek = inszerciók és deléciók) tartalmaztak, ezért az üres részeket a 2matrix v1.0 (Salinas és Little 2014) hiány/jelenlét karakterként kódolta, az egyszerű indelkódolási algoritmussal (Simmons és Ochoterena 2000). A két indel mátrixot illesztettük, és egyetlen partícióként adtuk hozzá az adatkészlethez. A filogenetikai következtetéshez legjobban illeszkedő modellt a ModelTest-NG v0.1.4 (Darriba és mtsai., 2019) szoftver segítségével választottuk ki, a Bayesian információs kritérium (Schwarz, 1978) segítségével, diszkrét-gamma arány eloszlással. Az egyes partíciókhoz legjobban illeszkedő modelleket a 2. táblázat mutatja. A legnagyobb valószínűség (maximum likelihood, ML) módszert az RAxML-NG v0.9.0 (Kozlov és mtsai., 2019) segítségével végeztük. A legjobb ML fa statisztikai alátámasztását 1000 bootstrap ismétléssel kaptuk.

2. táblázat: Az egyes partíciókhoz legjobban illeszkedő modellek

Partíció	Legjobban illeszkedő modell
<i>rpb2</i>	TrN+G4
<i>tefla</i>	TIM2+G4
<i>tub2</i> intron	HKY+G4
<i>tub2</i> exon	TrN+G4
rDNS	F81+G4
ITS	TIM2+G4
Indel	BIN+ASC_LEWIS

5.1.4.1. A *Chaetomium* és *Chaetomium*-szerű gombák morfológiai jellemzése

Az izolátumok morfológiáját és a telepek jellemzőit három különböző táptalajon vizsgáltuk: 2% (w/v) MEA-n (VWR), 3% (w/v) zabliszt agaron (OA, Merck, Darmstadt, Németország), PDA-n (VWR), hét napig sötétben, 25 °C-on történt inkubáció után (Wang és mtsai., 2016). A mikroszkópos vizsgálatokat fénymikroszkóp (Zeiss Primostar, Carl Zeiss, Suzhou, Kína), sztereomikroszkóp (Zeiss Stemi 305, Carl Zeiss, Suzhou, Kína) és SEM alkalmazásával végeztük. Az inkubációs idő letelte után a minták előkészítését és a

mikroszkópos vizsgálatokat az 5.1.2. fejezetben leírtak alapján végeztük el. A *Chaetomium* és *Chaetomium*-szerű gombák méreteinek (peritécium, aszkusz, spóra) meghatározásához ImageJ programot használtunk (<https://imagej.net/ij/>).

5. 2. Az izolált baktériumok és a gombák biokontroll képességeinek vizsgálata

5.2.1. *In vitro* antagonizmus-vizsgálat konfrontációs tenyészetekkel

Az *in vitro* antagonizmus-vizsgálatokat PDA táptalajon végeztük. A 9 cm átmérőjű Petri-csészék középpontjától 1 cm-re oltottuk le az *Armillaria* törzseket (5 mm-es agarkoronggal, 14 napos tenyészetekkel), 1 hétig inkubáltuk (25 °C-on, sötétben), majd a középponttól ellentétes irányban 1 cm-re oltottuk le az általunk izolált baktériumtörzseket (5.1.3. fejezet) (20 µL, 10⁵ sejt/mL) és további 2 hétig inkubáltuk a tenyészeteket 25 °C-on, sötétben. A baktériumtörzseket 24 óráig élesztő-glükóz táplevesbe (5 g/L élesztőkivonat, 10 g/L glükóz) előneveltük, majd a tenyészetek optikai denzitását (OD) 600 nm-en Spectrostar Nano spektrofotométer (BMG LABTECH GmbH, Ortenberg, Németország) segítségével mértük le és az OD alapján beállítottuk a tenyészetek sejtszámát.

A gombák esetében 1 hét inkubálás után gombamicéliumot tartalmazó 5 mm-es agarkorongot oltottunk le az *Armillaria* törzsek mellé.

A baktériumtörzsek *Armillaria*-val szembeni antagonizmusát egy másik módszerrel is vizsgáltuk, azonos sejtszámú baktériumtörzset (20 µL, 10⁵ sejt/mL) szélesztettünk a PDA táptalajra, és a táptalajok közepére helyeztük az *Armillaria*-t tartalmazó agarkorongot, ezt követően a tenyészeteket 3 hétig inkubáltuk 25 °C-on.

Az inkubációs idő letelte után minden Petri-csészét lefényképeztünk és Image J 1.52a program (<https://imagej.net/ij/>) segítségével lemértük az *Armillaria* telepek területét, és a következő képlet segítségével kiszámítottuk a baktériumtörzsek és gombatörzsek *Armillaria*-val szembeni gátlását:

$$\text{Gátlás \%} = \left\{ \frac{\text{Kontroll } \textit{Armillaria} \text{ telep területe} - \textit{Armillaria} \text{ telep területe biokontroll mikroorganizmusok jelenlétében}}{\text{Kontroll } \textit{Armillaria} \text{ telep területe}} \right\} * 100$$

5.2.2. Az *Armillaria* - biokontroll ágens interakció vizsgálata pásztázó elektronmikroszkóppal

Az izolált potenciális biokontroll mikroorganizmusok *Armillaria* elleni antagonista mechanizmusának megértése érdekében a mintákat SEM-el vizsgáltuk. Az előző fejezetben leírtak szerint *in vitro* konfrontációs tenyészeteket készítettünk. Az inkubációs idő letelte után

a minták előkészítését és a mikroszkópos vizsgálatokat az 5.1.2. fejezetben leírtak alapján végeztük el.

5.2.3. A *Bacillus* törzsek antifungális metabolitok szintéziséért felelős génjeinek vizsgálata

A *Bacillus* törzsek lipopeptid-termelésének képességét a lipopeptid-termelésért felelős gének jelenlétével vizsgáltuk. A DNS-kivonást, a PCR kivitelezését és a gélelektroforézist az 5.1.1. szakaszban leírt módszer szerint végeztük. A *Bacillus* lipopeptidek közül a bacillomicin (*BamC*), a szurfaktin (*sfp*) (Gond és mtsai., 2015), a fengicin (*fenB*), és a mikoszubtilin (*mycA*) (Bóka, 2019) termeléséért felelős géneket vizsgáltuk (3. táblázat).

3. táblázat: A vizsgált, lipopeptidek termeléséért felelős génszakaszok, alkalmazott primerek és PCR-paraméterek.

Gén	Indítószekvencia	PCR- paraméterek
<i>BamC</i>	Bacc1f: GAAGGACACGGAGAGAGTC Bacc1r: CGCTGATGACTGTTCATGCT	94 °C 4 p 94 °C 1 p 57 °C 30 mp 72 °C 90 mp 72 °C 7 p } 35 ciklus
<i>fenB</i>	fen-F: GTACAGCTCGCCGAATTCTT fen-R: GGCTACAATATGCCGGCTGTG	94 °C 4 p 94 °C 1 p 56,8 °C 1 p 72 °C 1 p 72 °C 10 p } 35 ciklus
<i>mycA</i>	mycA-F: GACTGGGATTTATCCCATATC mycA-R: GATTTTGGTTGACTCTAGCGC	94 °C 4 p 94 °C 1 p 55 °C 1 p 72 °C 1 p 72 °C 10 p } 35 ciklus
<i>sfp</i>	sfp-F: ATGAAGATTTACGGAATTTA sfp-R: TTATAAAAGCTCTTCGTACG	94 °C 4 p 94 °C 1 p 46,5 °C 1 p 72 °C 1 p 72 °C 10 p } 35 ciklus

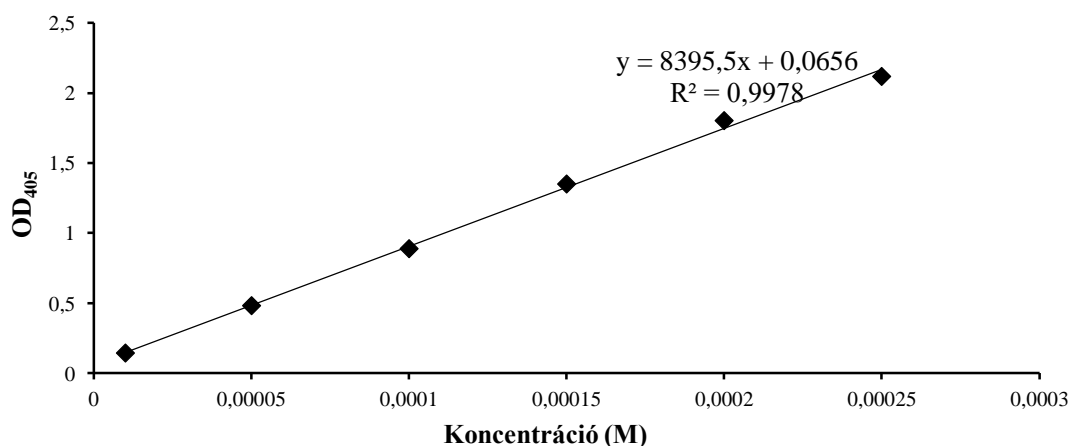
5.2.4. Kitináz enzimaktivitás mérése

A baktériumok és gombák által termelt kitináz enzim mennyiségének méréséhez kolloidális kitint tartalmazó 20 mL táplevest (6 g/L Na₂HPO₄, 3 g/L KH₂PO₄, 1 g/L NH₄Cl, 0,5 g/L NaCl, 0,05 g/L élesztőkivonat, 1% w/v kolloidális kitin) a baktériumok esetében az előnevelt baktériumtörzsekből 100 µL (10⁵ sejt/mL) sejtszámú baktérium szuszpenzióval, gombák esetében pedig gombamicéliumot tartalmazó agarkoronggal oltottuk be, majd hét napig 25 °C-on, 150 rpm fordulatszámon rázatva (MaxQ 8000 Incubated Stackable Shake, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) inkubáltuk.

Az enzimaktivitás-mérést 4-nitrofenil (4-NF) N-acetil-β-D-glükózaminid (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) kromogén szubsztrát felhasználásával végeztük.

A tenyészetek felülúszójából 100 µL mennyiséget mikrotiterlemezre vittünk fel, majd ehhez 100 µL 3 mM koncentrációjú 4-nitrofenil szubsztrátot adtunk. Az elegyet 37 °C-on, 60 percig inkubáltuk, majd a reakciót 100 µL 0,1 M-os Na₂CO₃ oldattal állítottuk le.

A felszabadult 4-nitrofenolt Spectrostar Nano (BMG Labtech, Ortenberg, Németország) mikrotiterlemez-leolvasó segítségével mértük 405 nm-es hullámhosszon. A kapott optikai denzitás értékeket Unit-ba (egy Unit az az enzimmennyiség, amely percenként 1 µmol 4-nitrofenolt szabadít fel adott reakciókörülmények között) számítottuk át ismert koncentrációjú 4-nitrofenol standard oldatok segítségével, amelyekből kalibrációs egyenest készítettünk (4. ábra). A kalibrációs egyenes elkészítéséhez 2,5×10⁻⁵, 5×10⁻⁵, 1×10⁻⁴, 1,5×10⁻⁴, 2×10⁻⁴, 2,5×10⁻⁴ és 3×10⁻⁴ M koncentrációjú 4-nitrofenol oldatokat készítettünk, majd 405 nm-en lemértük az abszorbanciájukat. A kalibrációs egyenes egyenlete (5. ábra): $y = 8199x + 0,0661$, ahol x a 4-nitrofenol koncentrációja, y az abszorbancia 405 nm-en, a regressziós koefficiens értéke pedig $R^2 = 0,997$.



4. ábra. A 4-nitrofenol kalibrációs egyenese.

5.2.4. Sziderofórtermelés vizsgálata

Az izolált baktériumok sziderofórtermelését krómazurol-szulfonsavat (CAS) és vas (III) kloridot tartalmazó táptalajon vizsgáltuk (Schwyn és Neilands, 1987). A módszer lényege, hogy a CAS és a három vegyértékű vas komplexet képeznek, melynek hatására a táptalaj kék színű lesz. Amikor a baktériumok a vasat felveszik a környezetükből, a CAS komplexből távozik a vas, és a táptalaj kék színe sárgára változik. A színváltozás alapján lehet mérni a baktériumok sziderofórtermelésének mértékét: kiértékelés során a baktériumtelepek körül megjelent narancssárga gyűrű a sziderofórok jelenlétére utal, ennek területét mértük le az inkubációs idő letelte után.

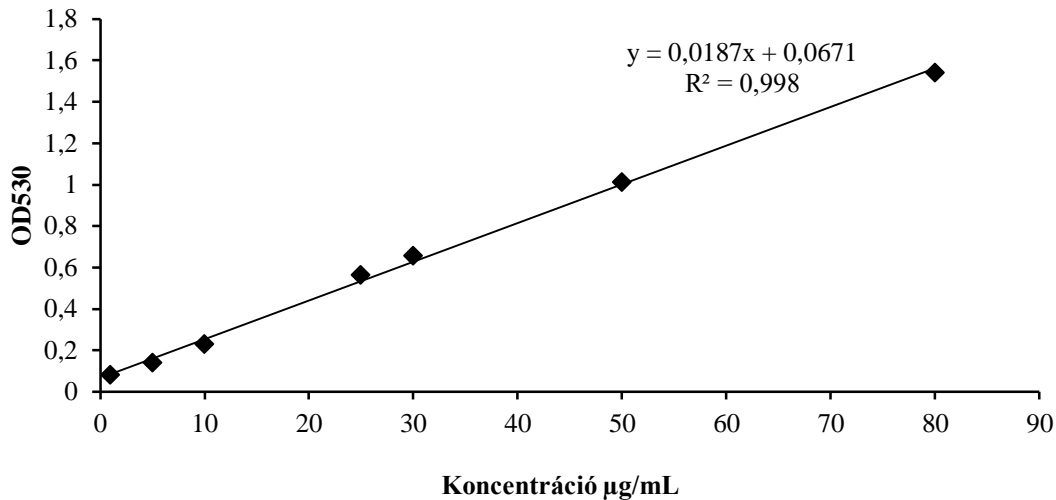
A krómazurolt tartalmazó táptalaj összetevői: 6 g piperazin, 0,6 g/L NaOH, 15 g/L proteóz-pepton, 15 g/L $MgSO_4 \times 7 H_2O$, 1,5 g/L K_2HPO_4 , 10 mL glicerin, 20 g/L agar, 900 mL desztillált víz. 60,5 mg/L krómazurol S (CAS) festék 50 mL desztillált vízben oldva, 10 mg/L vas(III)-klorid ($FeCl_3 \times 6 H_2O$) és 72,9 mg hexadecil-trimetil-ammónium-bromid (HDTMA) 50 mL desztillált vízben feloldva (Schwyn és Neilands, 1987). A baktériumtörzseket 24 óráig előnevelt tenyészetből oltottuk le, 10 μL (10^5 sejt/mL) sejtszámú baktériumszuszpenzióval, pontoltással. A tenyészeteket 3 napig inkubáltuk 25 °C-on.

5.3. Növénynövekedést serkentő tulajdonságok vizsgálata

5.3.2. Indol-3-ecetsav (IES) termelésének kimutatása spektrofotometriás méréssel

A baktérium és gombatörzsek IES-termelését spektrofotometriás módszerrel vizsgáltuk. A baktériumtörzsekből 100 μL 10^5 sejt/mL koncentrációjú szuszpenzióval beoltottunk 20 mL TSB (Tryptone-Soy Broth: 15 g/L tripton, 5 g/L szójapepton, 5 g/L NaCl, 1 mg/mL triptofán) táplevest, a gombák esetében pedig gombamicéliumot tartalmazó 5 mm-es agarkoronggal oltottuk be a TSB tápleveseket. 25 °C-on 150 rpm-en rázatva (KS 4000 ic control, IKA Werke Staufen, Németország) 5 napig inkubáltuk. Ezt követően a baktérium- és gombatenyészetekből 2 mL-t centrifugáltunk (5000 g, 15 perc). 100 μL felülúszóhoz 200 μL Salkowski reagenst (300 mL 98%-os H_2SO_4 , 15 mL 0,5 M-os $FeCl_3$, 500 mL desztillált víz) mértünk, az így előkészített mintákat 30 percig sötétben inkubáltuk szobahőmérsékleten, majd Spectrostar Nano spektrofotométerrel 530 nm-en lemértük a minták abszorbanciáját (Gordon és Weber, 1951). Az IES-koncentrációt ismert koncentrációjú IES standard oldatok segítségével határoztuk meg kalibrációs egyenes segítségével. Ennek elkészítéséhez 1, 5, 10, 25, 30, 50 és 80 $\mu g/mL$ koncentrációjú IES-oldatokat készítettünk, melyek 1 egységéhez 2 egység Salkowski-reagenst adtunk, sötétben 30 percig 25 °C-on inkubáltuk, majd 530 nm-en lemértük az

abszorbanciájukat. A kalibrációs egyenes egyenlete (5. ábra): $y = 0,0187x + 0,0671$, ahol x az indol-3-ecetsav koncentrációja, y az abszorbancia 530 nm-en, a regressziós koefficiens értéke pedig: $R^2 = 0,998$.



5. ábra. Az indol-3-ecetsav kalibrációs egyenese.

5.3.3. Extracelluláris szénhidrátbontó és foszfatáz enzimaktivitások mérése

A baktériumtörzsek és a gombatörzsek által termelt extracelluláris szénhidrátbontó enzimek mennyiségének méréséhez cellulózt tartalmazó táplevest (20 g/L mannitol, 10 g/L KH_2PO_4 , 5 g/L NaNO_3 , 2 g/L $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 20 g/L cellulózpor) oltottunk be 100 μL (10^5 sejt/mL) sejtszámú baktériumszuszpenzióval, illetve gombamicéliumot tartalmazó 5 mm-es agarkoronggal, majd hét napig 25 °C-on, 150 rpm fordulatszámon rázatva (MaxQ 8000 Incubated Stackable Shaker) inkubáltuk.

Az enzimaktivitás-méréseket 4-NF- β -D-glükopiranozid, 4-NF- β -D-cellobiozid, 4-NF- β -D-xilopiranozid, 4-NF-N-acetil- β -D-glükózaminid és 4-NF-foszfat (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) kromogén szubsztrátok felhasználásával végeztük. Az enzimaktivitás mérését az 5.2.4. fejezetben leírtak alapján végeztük.

5.3.4. A baktériumok csírázást serkentő hatásának vizsgálata fenyőmagok esetében

A kísérletet a fenyőmagok fertőtlenítésével kezdtük: 10%-os nátrium-hipoklorit oldatban 20 percig áztattuk a magokat, majd steril desztillált vízzel alaposan átmostuk. A csíráztatást Petri-csészében, steril szűrőpapíron végeztük. A szűrőpapírt steril desztillált vízzel (5 mL) nedvesítettük. Minden Petri-csészébe 10 db fenyőmagot tettünk, majd 5 mL 10^5 sejt/mL sejtszámú baktériumszuszpenziót pipettáztunk a magokat tartalmazó Petri-csészékbe, a kontrollok esetében pedig a baktériumszuszpenziót steril táplevessel helyettesítettük.

A magokat 4 hétig, 25 °C-on, sötétben inkubáltuk, majd lemértük a csiranövények gyökér-, szár-, levél- és teljes hosszát.

5.4. Statisztikai analízis

Az összegyűjtött adatok elemzéséhez és a vizuális megjelenítéshez az OriginPro 2021 szoftvert (OriginLab Corporation, Northampton, Massachusetts, USA) használtuk. Ez a program kiválóan alkalmas összetett statisztikai elemzések végrehajtására, valamint publikációs minőségű ábrák készítésére. Az OriginPro segítségével kiszámítottuk a vizsgált paraméterek alapvető leíró statisztikai jellemzőit, beleértve az átlagot, szórást, mediánt, minimumot és maximumot, valamint főkomponens-analízist végeztünk. Ezeket a grafikus ábrákon mutattuk be. A szignifikancia megállapítására a két mintás T-próbát, a kétszemponos ANOVA-t, Kruskal–Wallis-próbát, és Mann–Whitney-próbát végeztük el, az OriginPro 2021 szoftvert használatával.

6. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

6.1. Izolált *Armillaria* törzsek

A két mintavételi területről gyűjtött talaj-, termőtest- valamint rizomorfa-mintákból szelektív táptalajon *Armillaria* törzseket izoláltunk, melyeket szekvenciaalapú molekuláris módszerekkel azonosítottunk. A *tefla* gén diagnosztikus szakaszának szekvenciaanalízisével összesen 4 *Armillaria* fajt azonosítottunk: két túlevelű-specifikus fajt, az *A. cepistipes*-t (2 gombatörzs) és az *A. ostoyae*-t (3 gombatörzs) a Rosalia-hegységből, és két tölgyfa-specifikus fajt, az *A. mellea*-t (18 gombatörzs) és az *A. gallica*-t (4 gombatörzs) a Keszthelyi-hegységből (3. táblázat).

3. táblázat: A különböző vizsgálati helyszínekről izolált *Armillaria* törzsek

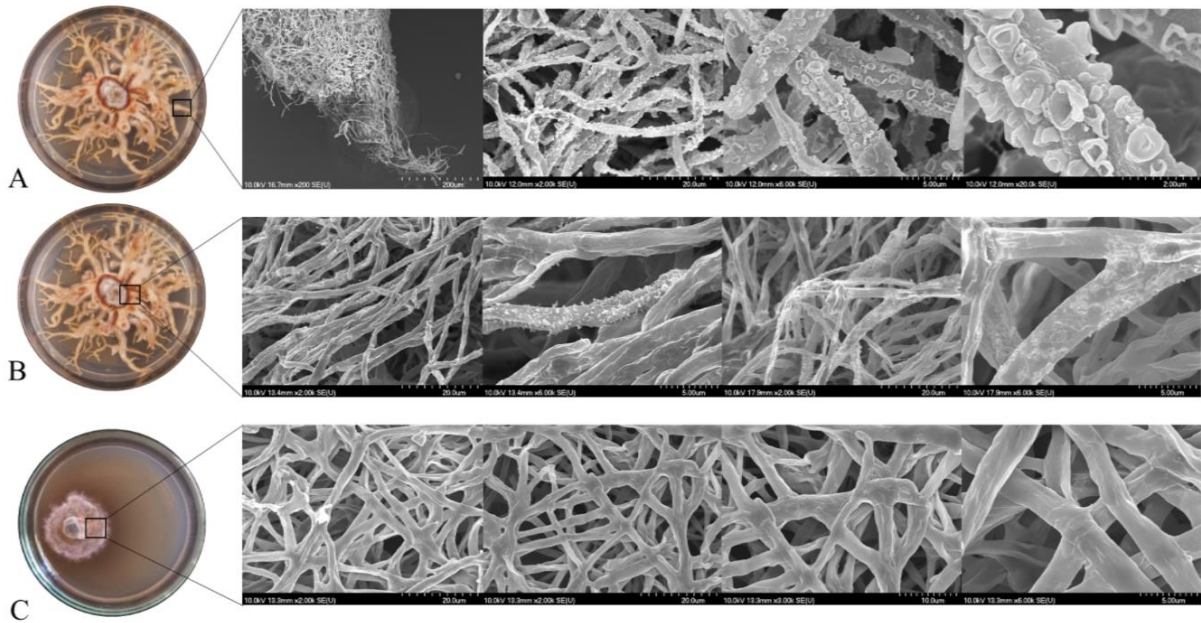
Izolálás helyszíne	Minta	Törzsgyűjtemény azonosító	Fajnév	Génbanki azonosító (<i>tefl</i>)
Rosalia-Hegység, Ausztria	termőtest	SZMC 24125	<i>A. cepistipes</i>	MN580140
	termőtest	SZMC 24126	<i>A. cepistipes</i>	MN580151
	rizomorfa	SZMC 24128	<i>A. ostoyae</i>	MN580144
	termőtest	SZMC 24129	<i>A. ostoyae</i>	MN580139
	termőtest	SZMC 24130	<i>A. ostoyae</i>	MN580142
Keszthely, Magyarország	talaj	SZMC 24095	<i>A. gallica</i>	MN580162
	talaj	SZMC 24098	<i>A. gallica</i>	MN580163
	talaj	SZMC 24099	<i>A. gallica</i>	MN580160
	termőtest	SZMC 24131	<i>A. mellea</i>	MN580137
	termőtest	SZMC 24132	<i>A. mellea</i>	MN580159
	termőtest	SZMC 24133	<i>A. mellea</i>	MN580138
	termőtest	SZMC 24134	<i>A. mellea</i>	MN580152
	termőtest	SZMC 24135	<i>A. mellea</i>	MN580145
	termőtest	SZMC 24651	<i>A. mellea</i>	MN580153
	termőtest	SZMC 24136	<i>A. mellea</i>	MN580155
	termőtest	SZMC 24137	<i>A. mellea</i>	MN580154
	termőtest	SZMC 24139	<i>A. mellea</i>	MN580158
	termőtest	SZMC 24140	<i>A. mellea</i>	MN580146
	termőtest	SZMC 24141	<i>A. mellea</i>	MN580150
	termőtest	SZMC 24142	<i>A. mellea</i>	MN580143
	termőtest	SZMC 24143	<i>A. gallica</i>	MN580141
	termőtest	SZMC 24144	<i>A. mellea</i>	MN580148
	termőtest	SZMC 24145	<i>A. mellea</i>	MN580149
	termőtest	SZMC 24146	<i>A. mellea</i>	MN580161
	termőtest	SZMC 24147	<i>A. mellea</i>	MN580157
termőtest	SZMC 24148	<i>A. mellea</i>	MN580156	
termőtest	SZMC 24149	<i>A. mellea</i>	MN580147	

A 6. ábra az izolált *Armillaria* fajok telepmorfológiáját mutatja PDA táptalajon, 3 hét tenyésztést követően. A két szaprofita faj, az *A. gallica* és az *A. cepistipes* izolátumainak morfológiája hasonlít egymásra: az *Armillaria* telepek sötétbarna színűek, erőteljes rizomorfaképzés figyelhető meg, míg az *A. mellea* tenyészetek világosbarnák, rizomorfáik pedig vékonyabbak. Az *A. mellea* esetében is sűrű rizomorfahálózat keletkezett, ellenben az *A. ostoyae* PDA táptalajon nem képez rizomorfákat, telepe pedig szürkésbarna, felülete pedig a többi fajjal ellentétben bársonyos textúrájú.



6. ábra. Erdei talajmintákból izolált *Armillaria*-k: **A.** tiszta *A. gallica* tenyészet, **B.** tiszta *A. mellea* tenyészet **C.** tiszta *A. cepistipes* tenyészet, **D.** tiszta *A. ostoyae* tenyészet.

Az izolált *Armillaria* fajok rizomorfájának és vegetatív micéliumainak morfológiáját pásztázó elektronmikroszkóppal is vizsgáltuk (7. ábra). Az *A. mellea* rizomorfájának SEM felvételén (7. A ábra) látható, hogy a rizomorfák sűrű, rendezett struktúrájú hifakötegekből állnak, a hifák felületén gömb alakú kitüremkedések figyelhetők meg, melyek valószínűleg a táplálék és levegő felvételre szolgálnak. A telepek közepéről vett minták SEM felvételein (7. B ábra) szintén rendezett hifakötegek láthatók, a szembeutó különbség, hogy a telep belsejéből vett minták esetében a hifák felületén nem voltak láthatók a gömb alakú kitüremkedések. Az egészséges *Armillaria* hifái henger alakúak, 3-4 μm átmérőjűek. Az *A. ostoyae* SZMC 24127 az általunk alkalmazott *in vitro* tenyésztési körülmények között nem képzett rizomorfákat, SEM felvételein sűrű, henger alakú hifák láthatók.



7. ábra. Az *Armillaria* fajok rizomorfáinak elektronmikroszkópos felvétele különböző nagyításokon. **A** - *A. mellea* SZMC 24131 rizomorfájának SEM felvétele, **B** - *A. mellea* SZMC 24131 telep belsejéből vett minta SEM felvétele, **C** - *A. ostoyae* SZMC 24127 SEM felvétele.

6.2. Izolált potenciális biokontroll baktériumok

A gyűjtött talaj-, termőtest- és rizomorfamintákból 22 baktériumtörzset izoláltunk. A baktérium- és *Pseudomonas*-szelektív táptalajokról 11 *Pseudomonas* sp. törzset izoláltunk, melyeket az *rpoB* szekvencia elemzése alapján határoztunk meg, továbbá 5 *Bacillus* sp., 4 *Paenibacillus* sp., 1 *Lysinibacillus* sp., és 1 *Burkholderia* sp. törzset, melyeket 16S Rrns, *rpoB* vagy *gyrA* szekvenciájuk alapján határoztunk meg. (4. táblázat).

4. táblázat: A különböző vizsgálati helyszínekről izolált baktériumtörzsek

Izolálás helyszíne	Törzsgyűjteményi azonosító	Fajnév	Referencia törzs	Törzsazonosító	Templát szekvencia	Hasonlóság (%)
Armillaria termőtest, Rosalia-hegység, Ausztria	SZMC 24183	<i>B. subtilis</i>	BEST3096	AP024622.1	teljes genom	100
	SZMC 24184	<i>Pseudomonas</i> sp.	S49	CP019432.1	teljes genom	99,12
	SZMC 24187	<i>Pseudomonas</i> sp.	P8_139	CP125379.1	teljes genom	97,19
	SZMC 24190	<i>Ps. koreensis</i>	MaBRA1	JQ317852.1	<i>rpoB</i>	98,86
	SZMC 24197	<i>Ps. mandelii</i>	McBPA3	JQ317871.1	<i>rpoB</i>	98,28
	SZMC 24198	<i>Burkholderia</i> sp.	GS2Y	PQ219486.1	16S rRNS	99,38
	SZMC 24199	<i>Paenibacillus</i> sp.	L304	KR181831.1	16S rRNS	99,42
	SZMC 24200	<i>B. subtilis</i>	BEST3096	AP024622.1	teljes genom	100
	SZMC 24201	<i>Pb. castaneae</i>	Ch-32	NR_044403.1	16S rRNS	99,71
	SZMC 24202	<i>Paenibacillus</i> sp.	L304	KR181831.1	16S rRNS	99,65
	SZMC 24203	<i>Lysinibacillus</i> sp.	DT3	JN208189.1	16S rRNS	99,85
	SZMC 24204	<i>Pb. castaneae</i>	Ch-32	NR_044403.1	16S rRNS	100
Talajminta, Keszthelyi-hegység, Magyarország	SZMC 24416	<i>Ps. mandelii</i>	JR-1	CP005960.1	teljes genom	97,57
	SZMC 24419	<i>Ps. fluorescens</i>	CHM01	JQ269321.1	<i>rpoB</i>	99,43
	SZMC 26958	<i>Ps. mandelii</i>	McBPA3	JQ317871.1	<i>rpoB</i>	99,13
	SZMC 24422	<i>Ps. mandelii</i>	McBPA3	JQ317871.1	<i>rpoB</i>	98,85
	SZMC 24423	<i>Ps. mandelii</i>	McBPA3	JQ317871.1	<i>rpoB</i>	98,60
	SZMC 24425	<i>Pseudomonas</i> sp.	S49	CP019432.1	teljes genom	98,60
	SZMC 24428	<i>Ps. fluorescens</i>	CHM01	JQ269321.1	<i>rpoB</i>	99,36
	SZMC 24437	<i>B. amyloliquefaciens</i>	ZJU1	CP041691.1	teljes genom	99,40
Armillaria termőtest, Keszthelyi-hegység, Magyarország	SZMC 24439	<i>B. subtilis</i>	CV16	CP062497.1	teljes genom	99,56
	SZMC 24440	<i>B. subtilis</i>	BEST3096	AP024622.1	teljes genom	100

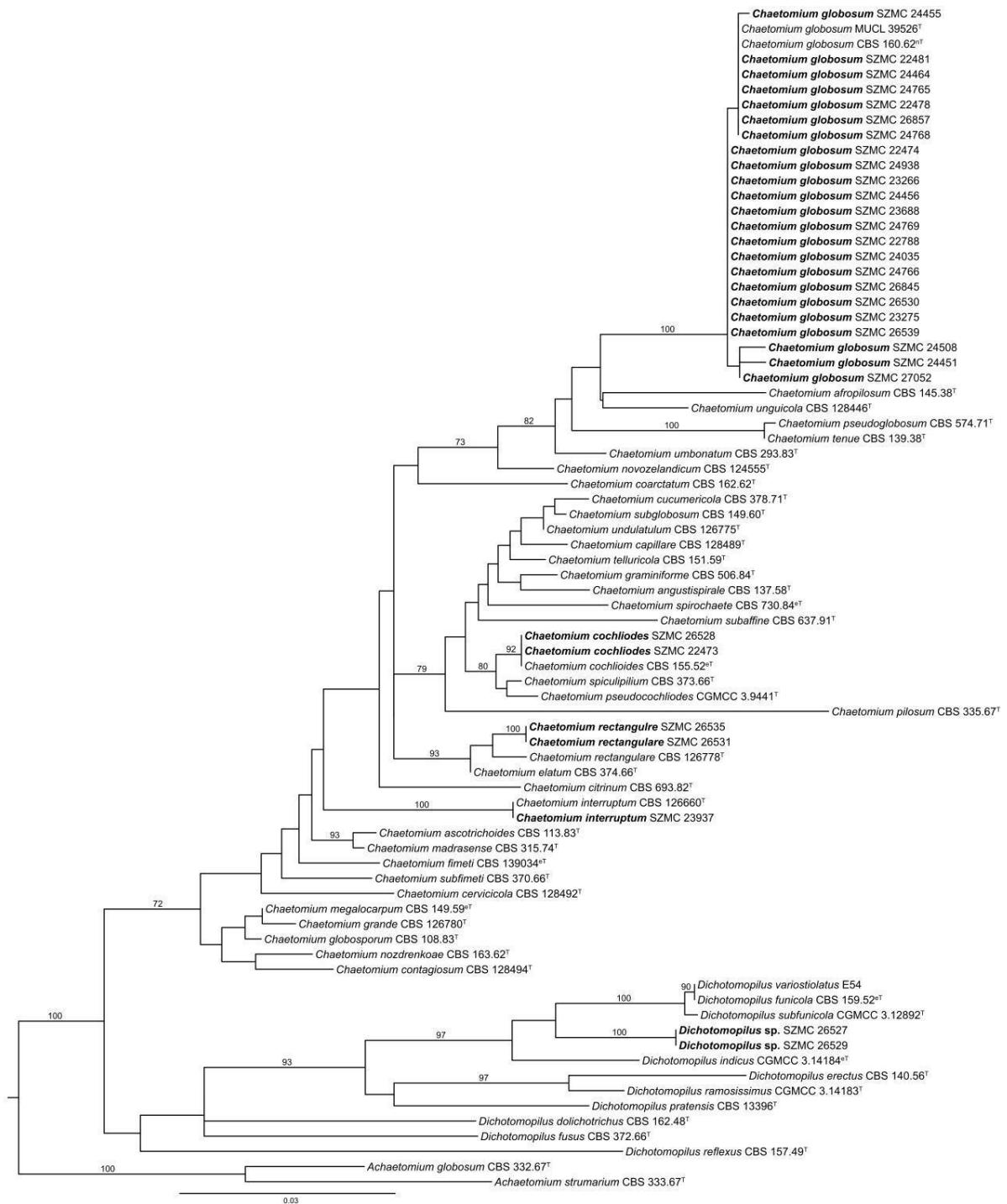
6.3. Szelektált potenciális *Armillaria*-biokontroll gombák

A *Chaetomium* sp. törzseket korábban magyarországi lakásokból és irodákból, valamint finnországi iskolákból, lakásokból és irodákból izolálták. A mintavétel a helységek levegőjéből, falairól, valamint a leülepedett porból történt. Az izolátumok a Szegedi Mikrobiológiai Törzsgyűjteményben (SZMC) kerültek elhelyezésre. A finnországi izolátumokat Salo és munkatársai (2020), gyűjtötték és egy korábbi munkánk során vizsgáltuk ezen gombatörzsek mikotoxintermelő képességét, amely során kimutattuk, hogy a *Ch. cochliodes* SZMC 24764 és 26528 gombatörzsek ketomint, ketoviridin A-t, és ketomugilin-t, a *Ch. globosum* SZMC 26530 és 26534 gombatörzsek pedig ketoglobozint, ketoviridin A-t, és ketoviridin C-t termelnek (Salo és mtsai., 2020).

A Szegedi Biológiai Törzsgyűjteményből összesen 32 (15 magyarországi és 17 finnországi) beltérből izolált *Chaetomium* sp. törzset választottunk ki vizsgálataink céljaira (5. táblázat). A törzseket *tef1 α* -szekvenciák alapján azonosítottuk és filogenetikai elemzést végeztünk (8. ábra). A 15 magyarországi *Chaetomium* sp. izolátumból 13 törzs bizonyult *Ch. globosum*-nak, 1-1 pedig *Ch. cochliodes*-nek, illetve *Ch. interruptum*-nak. A 17 finnországi izolátumból 11 törzs volt *Ch. globosum*, 2-2 törzs *Ch. cochliodes* illetve *Ch. rectangulare*, további 2 izolátum (SZMC 26527, SZMC 26529) pedig egy, a közeli rokon *Dichotomopilus* nemzetségbe tartozó, még le nem írt filogenetikai faj képviselőjének bizonyult.

5. táblázat: A vizsgált *Chaetomium* és *Dichotomopilus* törzsek megoszlása izolálási helyszínenként

Törzsgyűjtemény azonosító	Faj	Izolálás helyszíne	NCBI GenBank azonosító (<i>tef1</i>)
SZMC 22473	<i>Ch. cochliodes</i>	Lakás, Tatabánya, Magyarország	MW556657
SZMC 22474	<i>Ch. globosum</i>	Szálloda, Budapest, Magyarország	MW556658
SZMC 22478	<i>Ch. globosum</i>	Üzlethelyiség, Szentendre, Magyarország	MW556659
SZMC 22481	<i>Ch. globosum</i>	Lakás, Budapest, Magyarország	MW556660
SZMC 22788	<i>Ch. globosum</i>	Társasház, Budapest, Magyarország	MW556661
SZMC 23266	<i>Ch. globosum</i>	Panellakás, Csepel, Magyarország	MW556662
SZMC 23275	<i>Ch. globosum</i>	Családi ház, Csillaghegy, Budapest, Magyarország	MW556663
SZMC 23688	<i>Ch. globosum</i>	Panellakás, Kaszásdűlő, Budapest, Magyarország	MW556664
SZMC 23937	<i>Ch. interruptum</i>	Irodaház, Budapest, Magyarország	MW588206
SZMC 24035	<i>Ch. globosum</i>	Társasház, Budapest, Magyarország	MW556665
SZMC 24451	<i>Ch. globosum</i>	Iskola, Vantaa, Finnország	MW556666
SZMC 24455	<i>Ch. globosum</i>	Iskola, Vantaa, Finnország	MT498109
SZMC 24456	<i>Ch. globosum</i>	Egyetem, Espoo, Finnország	MT498108
SZMC 24464	<i>Ch. globosum</i>	Sertésfarm, Orimattila, Finnország	MT498106
SZMC 24508	<i>Ch. globosum</i>	Társasház, Budapest, Magyarország	MW556667
SZMC 24764	<i>Ch. cochliodes</i>	Iroda, Helsinki, Finnország	MT498103
SZMC 24765	<i>Ch. globosum</i>	Lakás, Vantaa, Finnország	MW310244
SZMC 24766	<i>Ch. globosum</i>	Lakás, Vantaa, Finnország	MT498110
SZMC 24768	<i>Ch. globosum</i>	Lakás, Vantaa, Finnország	MW556668
SZMC 24769	<i>Ch. globosum</i>	Egyetem, Espoo, Finnország	MT498107
SZMC 24770	<i>Ch. globosum</i>	Egyetem, Turku, Finnország	MW556669
SZMC 24938	<i>Ch. globosum</i>	Kazincbarcika, családi ház, nappali	MW556670
SZMC 26527	<i>Dichotomopilus</i> sp.	Iskola, Vantaa, Finnország	MW556671
SZMC 26528	<i>Ch. cochliodes</i>	Iroda, Helsinki, Finnország	MT498102
SZMC 26529	<i>Dichotomopilus</i> sp.	Egyetem, Espoo, Finnország	MT644127
SZMC 26530	<i>Ch. globosum</i>	Lakás, Vantaa, Finnország	MT498101
SZMC 26531	<i>Ch. rectangulare</i>	Sertésfarm, Orimattila, Finnország	MT498104
SZMC 26535	<i>Ch. rectangulare</i>	Sertésfarm, Orimattila, Finnország	MT498105
SZMC 26539	<i>Ch. globosum</i>	Kimenő szűrő, Finnország	MW588207
SZMC 26845	<i>Ch. globosum</i>	Panellakás, Csepel, Budapest, Magyarország	MW556672
SZMC 26857	<i>Ch. globosum</i>	Társasház, Budapest, Magyarország	MW556673
SZMC 27052	<i>Ch. globosum</i>	Pécs, Magyarország	MW556674



8. ábra. A vizsgált izolátumok (vastag kiemelések) Maximum Likelihood filogenetikai analízise a transzlációs elongációs faktor 1α (*tef1* α) lókusza alapján. T = típusörzs. Az elágazások feletti számok támogatottsági értékeket jelölnek, csak a 70%-nál nagyobb értékeket tüntettük fel.

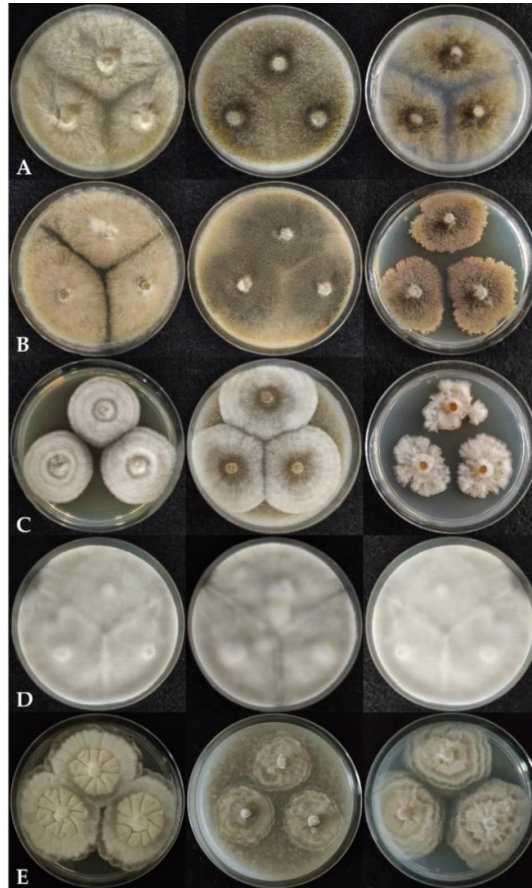
6.3.1. A *Chaetomium* és *Dichotomopilus* törzsek morfológiai jellemzői

Az *Chaetomium* és *Dichotomopilus* izolátumok morfológiáját és a telepek jellemzőit három különböző táptalajon (MEA, OA, PDA) vizsgáltuk 7 napig, sötétben, 25 °C-on történt inkubáció után. A megfigyelések célja a gombatörzsek növekedési mintázatainak és morfológiai különbségeinek feltárása volt, különös tekintettel a telepmorfológiára és a termőtestek kialakulására.

Az általunk vizsgált összes *Chaetomium* és *Dichotomopilus* törzs gyorsan növekedett mindhárom táptalajon, a telepek morfológiájában azonban felfedeztünk néhány különbséget.

A *Ch. cochliodes* (9. A ábra) telepei világos bézs színűek voltak MEA táptalajon, míg OA és PDA táptalajon barnásak, felszínük porszerű, a telepek széle hullámos, és nem termeltek színes exudátumot. A törzsek MEA táptalajon nem képeztek aszkospórákat tartalmazó termőtesteket, míg OA és PDA táptalajokon sötétzöld aszkospórák képződtek 7 nap alatt. A *Ch. globosum* (9. B ábra) telepei teljesen benőtték mind a MEA, mind az OA felszínét 7 nap alatt 25 °C-on. PDA-n a törzsek lassabban növekedtek. MEA-n nem termeltek aszkospórákat, de OA-n és PDA-n zöldes aszkospórák jöttek létre. A telepek színe a bézs (MEA, OA) és a barna (PDA) között változott, a felületi struktúrák pelyhesek vagy bársonyosak voltak, és minden táptalajon barnás exudátum képződött. A *Ch. interruptum* (9. C ábra) fehér micéliumot képzett mindegyik táptalajon, barnás exudátum diffundált a tápközegekbe, valamint nem termelt spórákat a 7 napos tenyésztés során 25 °C-on. MEA-n és OA-n szabályos kör alakú telepeket képzett, míg PDA-n a telepek széle szabálytalanul növekedett. A *Ch. rectangulare* (9. D ábra) 7 nap alatt 25 °C-on teljesen benőtte mindegyik tápközeget fehér, pamutszerű micéliummal, és nem jelent meg színes exudátum. A tesztelt körülmények között nem keletkezett aszkospóra.

A *Dichotomopilus* sp. telepei (9. E ábra) PDA táptalajon gyorsan növekedtek, a telepek széle enyhén hullámos, a felületük általában pelyhes szerkezetű, a micéliumok fehéres-krém színűek voltak, a telepek a táptalajon szabálytalan, koncentrikus gyűrűket képeztek, nem termeltek színes exudátumot, és szürke vagy fekete termőtestet képeztek 7 nap alatt. MEA táptalajon szintén gyorsan növekedtek a telepek, a telepek széle lebenyes, nem képeztek aszkospórákat a 7 napos inkubálás alatt. A telepek színe sárgásfehér; a felületük a bársonyszerű és a pelyhes között alakult. OA táptalajon a telepek lassan növekedtek. A telepek széle lebenyes, felszínük pedig bársonyszerű volt. A micéliumok színe fehér, és szürke vagy fekete termőtesteket képeztek.

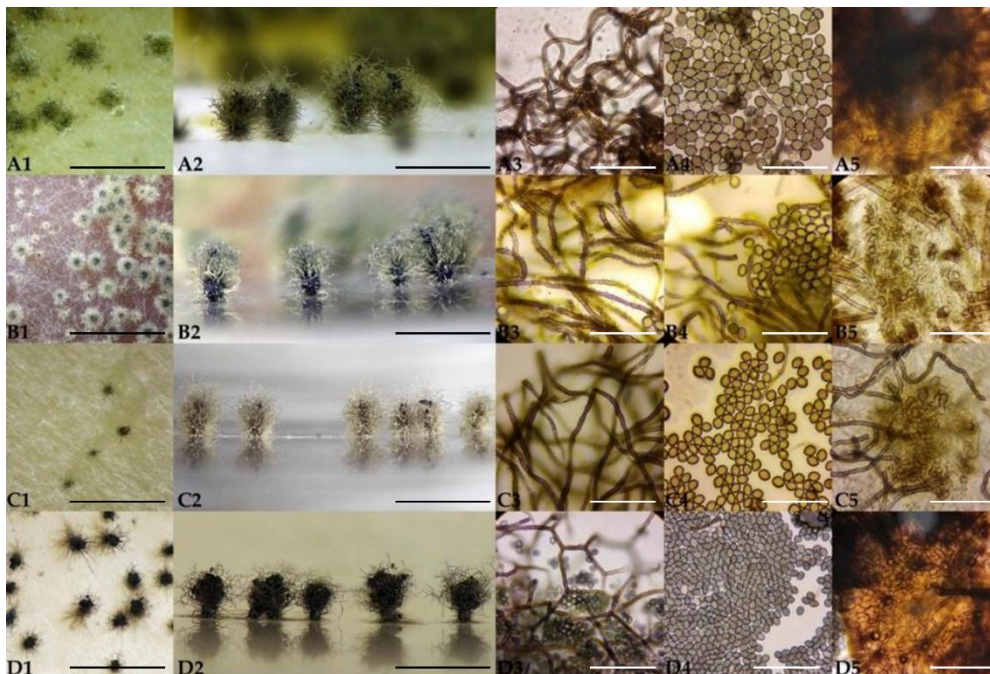


9. ábra. A *Chaetomium* törzsek telepmorfológiája különböző táptalajokon - balról jobbra: MEA, OA és PDA hét napos inkubáció után. **A.** *Ch. cochliodes* SZMC 22473, **B.** *Ch. interruptum* SZMC 23937, **C.** *Ch. globosum* SZMC 23266, **D.** *Ch. rectangulare* SZMC 26535, **E.** *Dichotomopilus* sp. SZMC 26529. A petri csészék átmérője 9 cm.

A szakirodalomban a *Ch. cochliodes* esetében hasonló morfológiai jellemzőkről számoltak be (Wang és mtsai., 2016), azonban a szakirodalomhoz képest eltérően azt tapasztaltuk, hogy OA és MEA táptalajon sárgás exudátumok diffundáltak a táptalajba. A *Ch. globosum* fajnál is hasonlóak voltak az alaktani sajátosságok, viszont OA és MEA táptalajokon különböző színű exudátumok képződtek (OA esetén például narancs, zöld, szürke, MEA esetén vörös) (Wang és mtsai., 2016). A *Ch. rectangulare* vizsgálataink során nem termelt aszkospórát, azonban Asgari és Zare (2011) leírták e fajról, hogy képez aszkospórákat. Megemlítették, hogy MEA táptalajon fehér-halványzöld színű pelyhes telepek nőttek, melyek hamar sötétzöld-feketévé váltak a létrejött termőtestek miatt. A *Ch. interruptum* esetében – vizsgálatainkhoz hasonlóan – Asgari és Zare (2011) kísérleteiben is fehér színű telepek keletkeztek MEA táptalajon, azonban kisebb telepátmérőket kaptak (15-34 mm). A termőtestek csak 20-23 nap után fejlődtek ki, és sárgásbarnák voltak.

A *Ch. cochliodes* peritéciumai (10. ábra, A1–A5) tojásdad alakúak, olíva-zöldek, faluk barna *textura intricata*, és osztiólummal rendelkeznek. A terminális szőrök az osztiólum körül

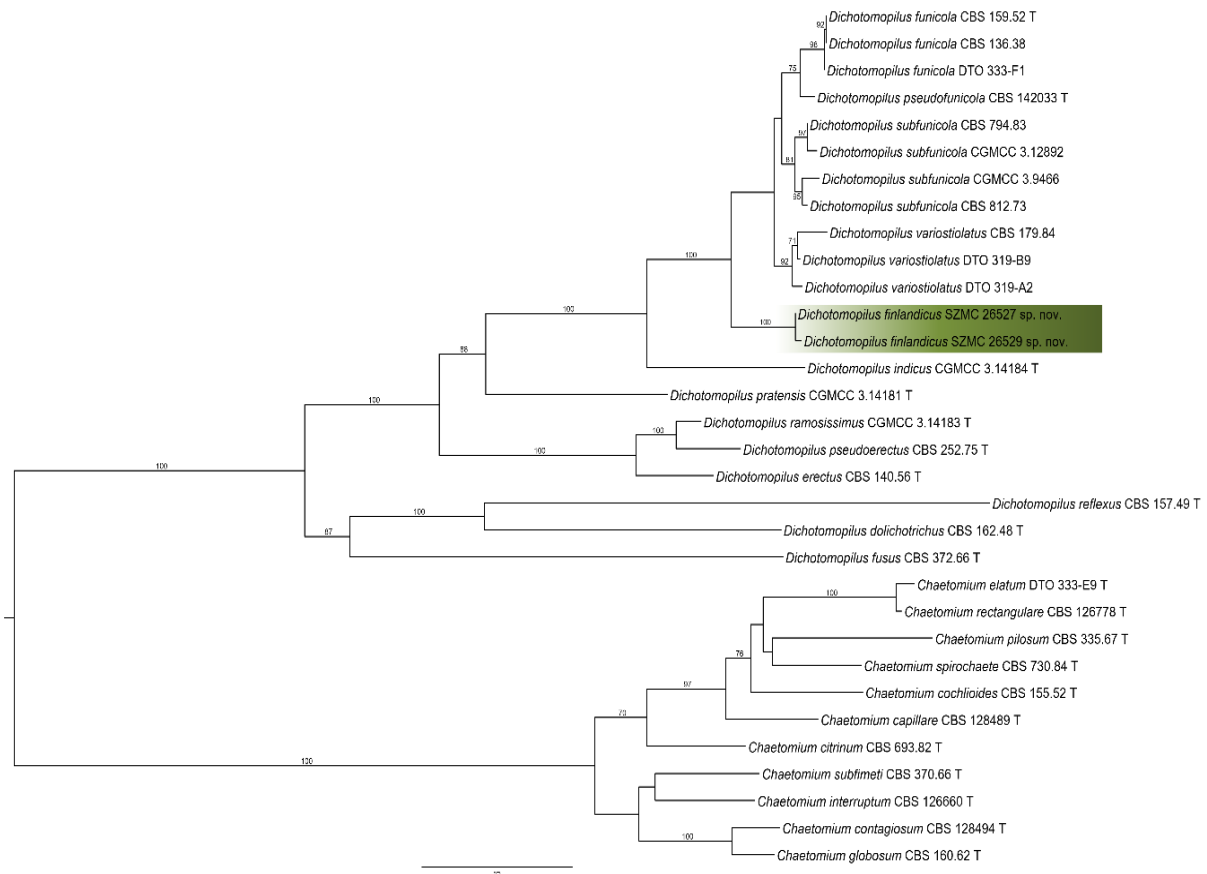
világosbarna vagy barna színűek és spirálisan csavarodottak, az oldalsó szőrök hullámosan vagy lazán csavarodottak, a csúcsuk felé elvékonyodnak. Az érett askospórák barnák, citrom alakúak, általában két végükön csúcsban végződők, oldalról lapítottak. A *Ch. globosum* termőtestek (10. ábra B1–B5) rendelkeznek osztiólummal, olívaöldek, faluk barna *textura intricata*. A terminális szőrök világosbarnák vagy barnák, hullámosan vagy lazán feltekerednek, az oldalsó szőrök barnák, kuszáltan csavarodottak, a csúcsuk felé elvékonyodnak. Az érett askospórák zöldesek vagy barnák, gömbszerű vagy citrom alakúak, oldalról lapítottak. A *Ch. interruptum* termőtesteknek (10. ábra, C1–C5) is van osztióluma, barna színűek, valamint faluk barna *textura epidermoidea* (szorosan összefonódott, szabálytalanul elhelyezkedő hifák szövete, hifák közti tér nélkül, a falak egyesültek, általában hártvás vagy epidermiszszerű szövetet képezve). A terminális szőrök barnák és hullámosak, az oldalsó szőrök barnák, hajlottak, a csúcsuk felé elvékonyodnak. Az érett askospórák zöldes vagy barna színűek, gömbszerű vagy citrom alakúak, oldalról lapítottak. A *Dichotomopilus* sp. termőtestek (10. ábra, D1–D5) osztiólummal rendelkeznek, gömb vagy tojásdad alakúak, sötétbarnák. A termőtest fala barna, hosszúkás vagy szabálytalan sejtekből (*textura intricata*) épül fel. A terminális szőrök általában világosbarnák vagy olajbarnák, villásan 4-6-szor elágaznak, és szabályosan szeptáltak. Az oldalsó szőrök nem elágazóak, szeta-szerűek, a csúcs felé keskenyednek, az askospórák barnák, széles ellipszoid vagy mandula alakúak.



10. ábra. A *Chaetomium* sp. termőtestjei. **A1–A5** *Ch. cochliodes* SZMC 22473. **B1–B5** *Ch. globosum* SZMC 23266. **C1–C5** *Ch. interruptum* SZMC 23937. **D1–D5** *Dichotomopilus* sp. SZMC 26529 **1.** termőtest felülnézete (méretvonal - 500 µm); **2.** termőtest oldalnézete (méretvonal - 400 µm); **3.** termőtestszőrök (méretvonal - 50 µm); **4.** askospórák (méretvonal - 50 µm); **5.** termőtestfal (méretvonal - 50 µm).

6.3.2. A *Dichotomopilus* törzsek filogenetikai helyzete és taxonómiája

A *Dichotomopilus* sp. izolátumok filogenetikai helyzetének vizsgálatára felhasznált *tefla*, ITS, *rpb2* és *tub2* adatkészlet 935, 639, 525 és 571 karakterből állt. Az indel-alapú bináris adatkészlet 100 karakter hosszú volt. Az SZMC 26527 és az SZMC 26529 izolátumokat új faj tagjaiként határoztuk meg magas megbízhatósági értékekkel a *tefla* (11. ábra) és a másik három lókuszt (ITS, *rpb2*, *tub2*) alapján kapott filogramok alapján is. A végső következtetéshez a négy lókuszt összefűztük és particionáltuk. A konkatenált szekvenciákból következtetett Maximum Likelihood filogenetikai fa (11. ábra) alapján az SZMC 26527 és az SZMC 26529 izolátumok egyértelműen megkülönböztethető elágazást képeznek a *Dichotomopilus* nemzetségen belül, a legközelebbi rokonok pedig a *D. funicola*, *D. pseudofunicola*, *D. subfunicola* és *D. variostiolatus*. Ezt az új fajt az alábbiakban *Dichotomopilus finlandicus* sp. nov.-ként ismertetjük.



11. ábra. A *Dichotomopilus* nemzetség Maximum Likelihood filogenetikája a konkatenált transzlációs elongációs faktor 1a (*tefla*), köztes átírózó elválasztó régió (ITS), RNS polimeráz II legnagyobb és második legnagyobb alegysége (*rpb2*) és a β -tubulin (*tub2*) gének szekvenciái alapján. T = típus-törzs. Az elágazások feletti számok támogatottsági (bootstrap) értékeket jelölnek, csak a 70%-nál nagyobb értékeket tüntettük fel.

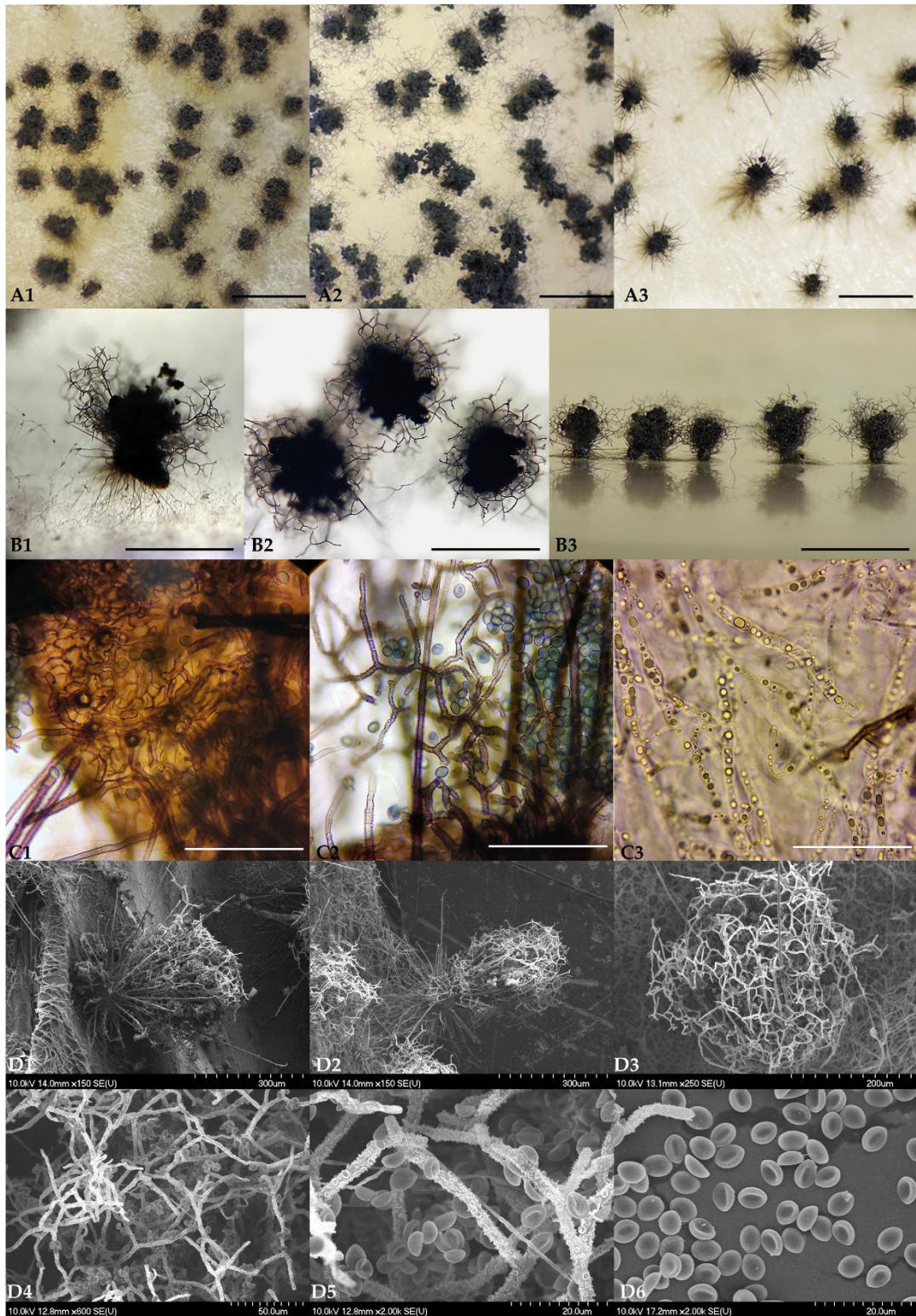
Dichotomopilus finlandicus O. Kedves, S. Kocsubé és L. Kredics sp. nov. MycoBank azonosító: 840621. Elnevezése (etimológia) a származási országra utal. Növekedési hőmérséklet: optimális 25-30 °C, minimum 15 °C és maximum 38 °C (Kedves és mtsai., 2021 b). Vizsgált példány: beáramló levegő szűrőjéről (2 × 2 cm), középület, Espoo, Finnország. Holotípus: fagyasztva szárított tenyésztési minta a Szegedi Mikrobiológiai Törzsgyűjteményben (SZMC), a Szegedi Tudományegyetem Természettudományi és Informatikai Karának Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszékén, SZMC 26529; Nem sporuláló törzs: SZMC 26527 egy iskolaépületből, Vantaa, Finnország.

A termőtest (12. ábra, A1–B3) osztiólummal rendelkezik, gömb vagy tojásdad alakú, sötétbarna, 150-180 µm magas és 110-130 µm széles. A termőtest fala (12. ábra, C1) barna, hosszúkas vagy szabálytalan sejtekből (*textura intricata*) épül fel. A terminális szőrök (12. ábra, B1–B3, C1) általában világosbarnák vagy olajbarnák, villásan 4-6-szor elágaznak, 250-320 µm hosszúak, 3-4,5 µm átmérőjűek, és szabályosan szeptáltak. Az oldalsó szőrök nem elágazóak, szeta-szerűek, a csúcs felé keskenyednek.

Az aszkuszok (12. ábra, C3) 8 szabálytalanul elrendezett aszkospórárt tartalmaznak; spóratartó részük 18-19 × 7-8 µm, nyelük 6-11 µm hosszú. Aszkospórák: barnák, széles ellipszoid vagy mandula alakúak, nagyságuk 5,12-6,42 (5,88) × 4,06-4,82 (4,42) × 2,31-3,58 (2,82) µm (hosszúság × szélesség × vastagság).

Az új faj törzsei közül az SZMC 26527 törzs egy beáramló levegő szűrőjéből lett izolálva, és valószínűleg a kültéri levegőből származik, míg az SZMC 26529 törzset a kiáramló levegőszűrőből izolálták, ami azt jelezheti, hogy a SZMC 26529 rendelkezik lehetséges beltéri forrással. Másrészt mivel ezt az új fajt a bemeneti- és kimeneti levegőszűrőkben is észlelték, elképzelhető az is, hogy a törzsek a gyártás során kerültek a szűrő anyagába.

A filogenetikailag legközelebbi rokon fajok molekulárisan és morfológiailag is különböznek az általunk vizsgált törzsektől. Wang és munkatársai (2016) vizsgálatai alapján a rokon fajok számos morfológiai tulajdonsága (termőtestek, terminális szőrök, aszkuszok) eltérő, míg az aszkospórák alakja és mérete hasonló volt a *D. finlandicus*-hoz, amelyet új fajként írtunk le.



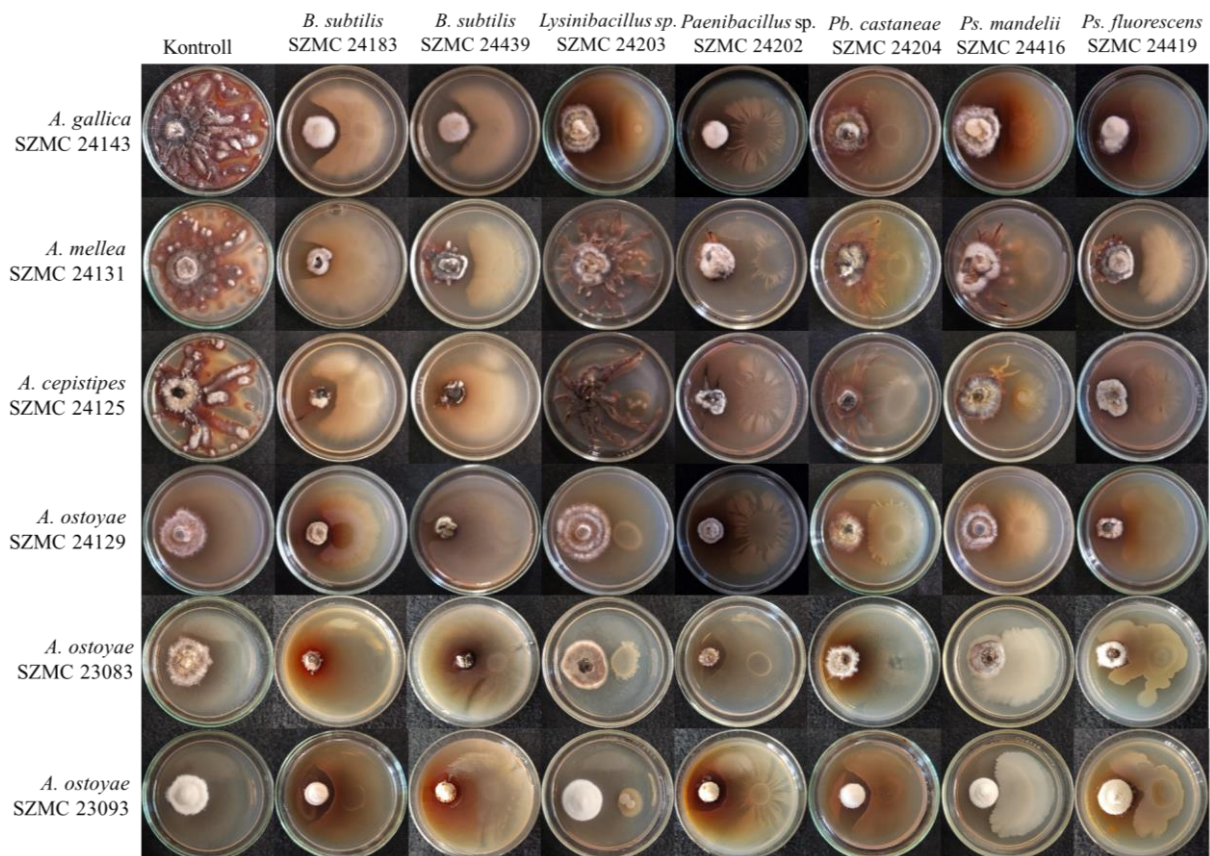
12. ábra. *Dichotomopilus finlandicus* SZMC 26529. **A1–A3** a termőtest morfológiája különböző táptalajokon (balról jobbra: OA, MEA és PDA, méretvonalak: A1-A3 400 μ m); **B1–B3** termőtest **B1, B3** oldalnézet, **B2** felülnézet; (B1, B2 méretvonalak 150 μ m-nek a B3-400 μ m-nek felelnek meg), **C1** - termőtestfal, **C2** - termőtestszőrök és aszkospórák, **C3** - aszkuszok és aszkospórák (C1-C3 méretvonalak 50 μ m-nek felelnek meg)); **D1–D6**. pásztázó elektronmikroszkópos felvételek: **D1, D2**. termőtest, **D3**. termőtest terminális szőrzete, **D4, D5**. termőtestszőrök és aszkospórák, **D6**. aszkospórák.

6.4. Az izolált baktériumtörzsek *in vitro* antagonizmusa *Armillaria* fajokkal szemben

6.4.1. *In vitro* antagonizmus konfrontációs tenyésztéssel

Az *in vitro* antagonizmus-vizsgálatokat a 22 izolált baktériumtörzsszel (4. táblázat) és az összes izolált *A. gallica* (4 gombatörzs), *A. cepistipes* (2 gombatörzs), *A. ostoyae* (3 gombatörzs), valamint 4 *A. mellea* gombatörzsszel, és két Svájcban izolált *A. ostoyae* törzsszel (C18 = SZMC 23083, diploid, és C18/9 = SZMC 23093, haploid; (Prospero és mtsai., 2004) szemben végeztük el.

A 13. ábra néhány példán keresztül mutatja be az antagonizmus-vizsgálat eredményeit. Az első oszlopban láthatók a kontroll *Armillaria* tenyészetek 3 hét inkubálást követően, a többi oszlopban pedig a baktériumtörzsek *Armillaria* törzsek növekedésére gyakorolt hatását láthatjuk. Mivel az *Armillaria* törzsek lassabban nőnek, mint a baktériumok, ezért mindegyik *Armillaria* tenyészetet 1 hétig előneveltük, majd ezt követően oltottuk le melléjük a baktériumtörzseket, és további 2 hétig inkubáltuk.



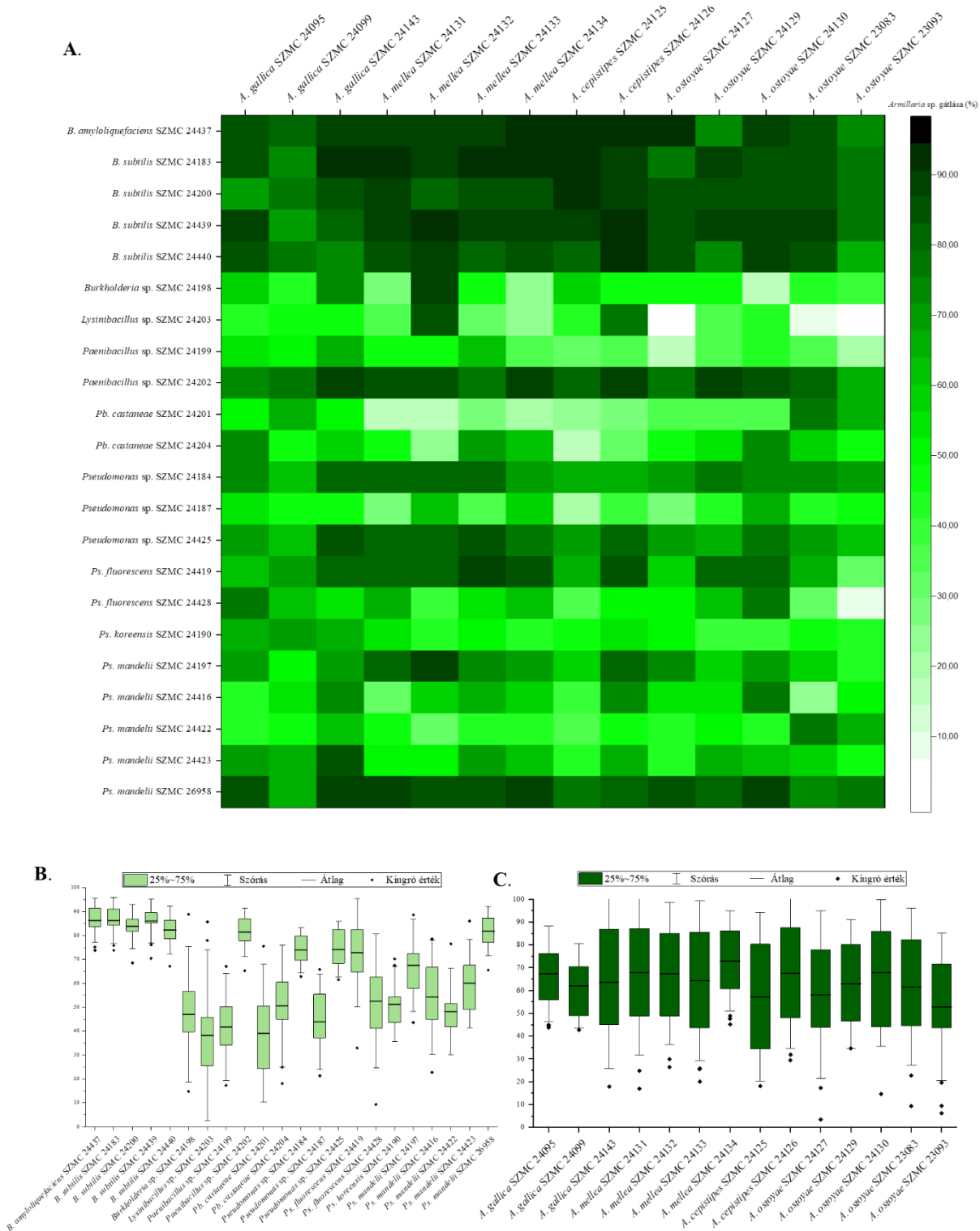
13. ábra. Az izolált baktériumtörzsek *in vitro* antagonizmusa *Armillaria* törzsekkel szembeni konfrontációs kísérletben.

A vizsgált baktériumtörzsek nagy része képes volt az *Armillaria* sp. törzsek növekedésének gátlására, egyetlen baktériumtörzs kivételével: a *Lysinibacillus* sp. SZMC 24203 egyáltalán nem gátolta az *A. ostoyae* SZMC 24129 törzs növekedését (14. ábra), és a többi vizsgált *Armillaria* törzssel szemben is alacsony gátlást mutatott, kivéve az *A. mellea* SZMC 24132 törzset, mellyel szemben 85%-os növekedésgátlást ért el. Emellett gyenge *Armillaria* növekedésgátlást figyeltünk meg a *Burkholderia* sp. SZMC 24198, és két *Pb. castaneae* törzs (SZMC 24201 és SZMC 24204) esetében. Néhány *Pseudomonas* törzsnél megfigyeltük, hogy az *Armillaria* növekedését kevésbé, viszont a rizomorfa képzést teljes mértékben gátolták, ilyen például a 13. ábrán látható *Ps. mandelii* SZMC 24416: az *A. gallica* SZMC 24143 törzssel szemben leoltva növekedésgátlást kevésbé lehet megfigyelni, a gomba azonban rizomorfa képzést nem képzett.

A legígéretesebb biokontroll baktériumtörzsek a *Bacillus* nemzetség képviselői (*B. amyloliquefaciens* SZMC 24437, *B. subtilis* SZMC 24183, SZMC 24200, SZMC 24439, SZMC 24440), valamint néhány *Pseudomonas* (*Pseudomonas* sp. SZMC 24184, *Ps. fluorescens* SZMC 24419 és *Ps. mandelii* SZMC 26958) és egy *Paenibacillus* sp. törzs (SZMC 24202) voltak. Az összes vizsgált *Bacillus* sp. törzs (*B. amyloliquefaciens* SZMC 24437, *B. subtilis* SZMC 24183, SZMC 24200, SZMC 24439, SZMC 24440) 80% feletti mértékben (rendre 86%, 86%, 83%, 86%, 82%) gátolta az összes tesztelt *Armillaria* növekedését (14. B ábra).

Megfigyeltük, hogy a szaprofita *Armillaria* fajok (*A. gallica*, *A. cepistipes*) növekedését kevésbé gátolták a baktériumtörzsek, mint a parazita *Armillaria* fajok (*A. mellea*, *A. ostoyae*) növekedését (14. C ábra), egy kivétellel: az *A. ostoyae* SZMC 23093 esetében volt a legalacsonyabb a növekedésgátlás.

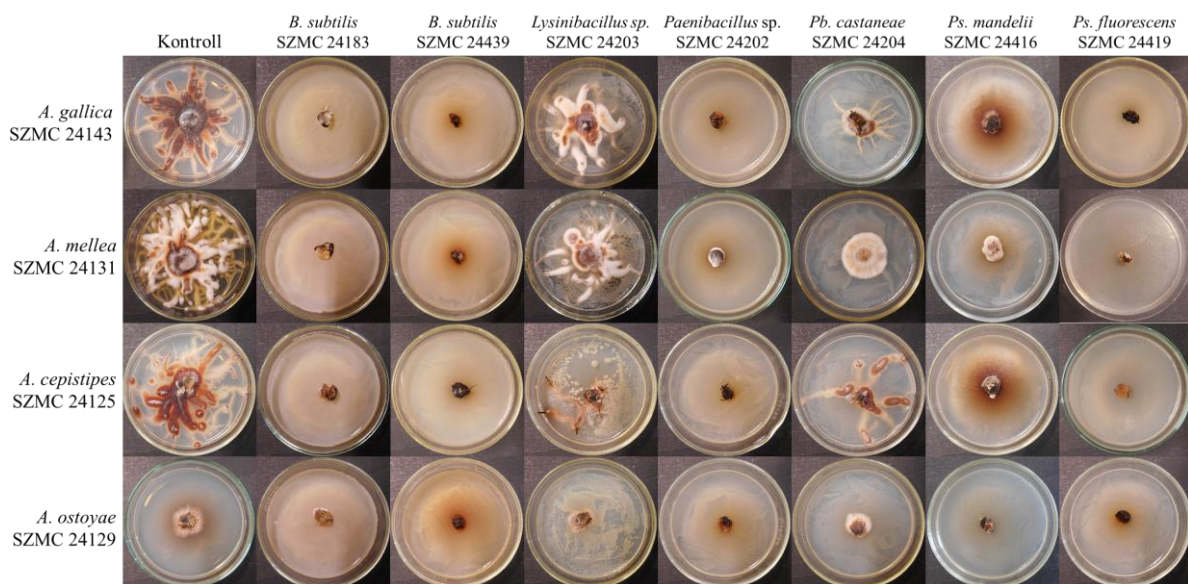
A szaprofita fajok magasabb ellenálló képessége a baktériumfajokkal szemben azzal magyarázható, hogy ezen fajok (pl. *A. gallica* és *A. cepistipes*) főként elhalt szerves anyagokon élnek, ahol a szaprofita gombák természetes közegükben sokféle baktériummal találkoznak, így evolúciósan kialakulhattak olyan stratégiáik, amelyek segítik őket a baktériumokkal szembeni túlélésben. Ezek a fajok valószínűleg jobban alkalmazkodtak az együttéléshez, így kevésbé érzékenyek a baktériumok által termelt antimikrobiális anyagokra.



14. ábra. Baktériumtörzsek *in vitro* antagonizmusa *Armillaria* törzsekkel szemben,
A. A baktériumtörzsek *Armillaria*-val szembeni gátlása %-ban kifejezve,
B. A baktériumtörzsek gátlási értékeinek eloszlása, **C.** Az *Armillaria* törzsek gátlási értékeinek eloszlása.

Az első *in vitro* konfrontációs módszerben az *Armillaria* törzsek 1 hétig növekedtek, mielőtt a baktériumokat leoltottuk volna melléjük, emiatt nem értek el a baktériumtörzsek 100%-os növekedésgátlást. Ezért a teszteket megismételtük úgy, hogy előbb a baktériumtörzseket szélesztettük a táptalaj felületére, majd miután a Petri-csészék beszáradtak, a középpontjukra helyeztük a gombát tartalmazó agarkorongot, és 3 hétig sötétben, 25 °C-on inkubáltuk a csészéket.

A 15. ábra első oszlopában láthatók a kontroll *Armillaria* tenyészetek 3 hét inkubálást követően, a többi oszlopban pedig a baktériumtörzsek hatása az *Armillaria* törzsek növekedésére. Az ábrán látható, hogy a *B. subtilis* SZMC 24183, SZMC 24439, a *Paenibacillus* sp. SZMC 24202 és a *Ps. fluorescens* SZMC 24419 baktériumtörzsek hatására az *Armillaria* törzsek el sem tudtak kezdeni növekedni a táptalajon. A *Ps. mandelii* SZMC 24416 esetében ezzel a módszerrel is azt figyeltük meg, hogy leginkább az *Armillaria* rizomorfaképzését gátolja. A *Lysinibacillus* sp. SZMC 24203 és a *Pb. castaneae* SZMC 24204 minimálisan gátolták az *Armillaria*-k növekedését.



15. ábra. Az izolált baktériumtörzsek *in vitro* antagonizmusa *Armillaria* törzsekkel szemben. A baktériumok a táptalaj felületére lettek szélesztve, a gomba pedig a táptalaj közepére oltva.

Kísérleti eredményeink összhangban vannak Dumas (1992) megfigyeléseivel, miszerint az általuk vegyes erdő talajából izolált leggyakoribb baktériumok a *Pseudomonas* spp. és a *Bacillus* spp. voltak, és ezen baktériumok voltak a leginkább gátló hatással az *A. ostoyae* és az *A. gallica* micélium- és rizomorfánövekedésére. Azt is megállapították továbbá, hogy egy adott nemzetség törzsei között voltak eltérések a növekedésgátlásban (Dumas, 1992). Ez megfigyelhető volt a mi kísérleteinkben is a *Pseudomonas* és a *Paenibacillus* nemzetségek

esetében, például a *Paenibacillus* sp. SZMC 24202 átlagosan 82% növekedésgátlást eredményezett, míg a *Pb. castaneae* SZMC 24201 átlagosan 39%-os gátlást, sőt fajon belül eltérő törzsek esetében is találtunk eltéréseket, például a *Ps. mandelii* SZMC 26958 átlagosan 82%-ban gátolta az összes *Armillaria* növekedését, míg a *Ps. mandelii* SZMC 24422 átlagosan csupán 48%-ban. Hasonló megfigyelésről tudósítottak DeLong és munkatársai (2002) *Ps. fluorescens* esetében: a faj egyes törzsei 40%-os mértékben gátolták az *A. ostoyae* növekedését, míg mások több mint 80%-os gátlást értek el. Pellegrini és munkatársai (2013) 158 gomba és baktériumfaj biokontroll potenciálját vizsgálták az *A. mellea*-val szemben, vizsgálatukban szerepeltek *Bacillus* törzsek (*B. safensis*, *B. marsiflavi*, *B. megaterium*, *B. simplex*, *B. thioparans*, *B. weihenstephanensis*), két *Lysinibacillus* törzs (*L. fusiformis*, *L. sphaericus*), egy *Paenibacillus* sp., és egy *Pb. agaridevorans*, valamint további *Pseudomonas* fajok (*Ps. aeruginosa*, *Ps. cedrina*, *Ps. cichorii*, *Ps. chlororaphis*, *Ps. koreensis*, *Ps. lini*, *Ps. lutea*, *Ps. mandelii*, *Ps. aurantica*, *Ps. putida*, *Ps. mosselii*, *Ps. trivialis*, *Ps. vranovenssis*) törzsei. A legmagasabb *A. mellea* növekedésgátlást a *Ps. cichorii* (65%) törzsek esetében figyelték meg, a többi törzs alacsony gátlást mutatott az *A. mellea*-val szemben. Mesanza és munkatársai (2016) szintén a *Ps. fluorescens*-t találták a legeredményesebbnek az *A. mellea*-val szemben.

Basurto-Cadena és munkatársai (2012) szintén megfigyelték a *B. subtilis* hatékony antagonizmusát az *A. mellea*-val szemben, viszont a többi *Armillaria* fajjal szemben nincs információ a szakirodalomban. A *B. amyloliquefaciens* *Armillaria* elleni antagonizmusáról sem találtunk adatot.

Legjobb tudomásunk szerint elsőként vizsgáltuk a *Paenibacillus* fajok antagonizmusát *A. gallica*, *A. cepistipes* és *A. ostoyae* fajokkal szemben. Korábban Pellegrini és munkatársai (2013) vizsgálták két *Paenibacillus* törzs (*Paenibacillus* sp., *Pb. agaridevorans*) antagonista hatását az *A. mellea*-val szemben, és a *Pb. agaridevorans* esetében nem mutattak ki növekedésgátlást, a *Paenibacillus* sp. pedig 35%-ban gátolta a növekedést. Az általunk izolált *Paenibacillus* sp. SZMC 24202 magas, átlagosan 84%-os növekedésgátlást mutatott az *A. mellea* törzsekkel szemben, viszont a *Paenibacillus* sp. SZMC 24199, illetve a *Pb. castaneae* SZMC 24201 és 24204 törzsek esetében alacsony gátlást figyeltünk meg az összes *Armillaria*-val szemben.

A szakirodalomban nem találtunk a *Burkholderia* és a *Lysinibacillus* fajok *Armillaria* fajok elleni antagonizmusának vizsgálatára vonatkozó adatot. Valamint elsőként vizsgáltuk az *A. cepistipes* növekedésének gátlását baktériumokkal.

6.4.2. A konfrontációs antagonizmus vizsgálata SEM-mel

A 13. ábrán szemléltetett, konfrontációs antagonizmus-vizsgálatok során megfigyeltük, hogy egyes esetekben az *Armillaria* és a baktériumtörzsek nem nőttek teljesen össze a Petri-csészén, ezért a biokontroll baktériumtörzsek *Armillaria* elleni antagonista mechanizmusának megértése érdekében a mintákat pásztázó elektronmikroszkóppal (SEM) is megvizsgáltuk.

A SEM-vizsgálatokat mindegyik *Armillaria* faj 1-1 törzsével, valamint 5 különböző fajba tartozó baktériumtörzsszel végeztük el. A SEM vizsgálatokra olyan baktériumokat választottunk ki, amelyek teljesen érintkeztek az *Armillaria* törzsszel, és olyanokat is, amelyek az antagonista tesztek alatt gátolták az *Armillaria* törzsek növekedését, de fizikailag nem érintkeztek a Petri-csészéken, valamint egy olyan baktériumtörzset, amely kevésbé gátolta az *Armillaria* törzsek növekedését.

In vitro konfrontációs tenyészeteket készítettünk, amelyek során az *Armillaria* fajok egy hetes inkubálását követően a baktériumokat az *Armillaria* mellé oltottuk, majd további 2 hét inkubálás után SEM-módszerrel tanulmányoztuk az *Armillaria* törzsek hifáinak potenciális biokontroll baktériumtörzsek és metabolitjaik által előidézett károsodását (16., 17., 18., és 19. ábra).

A 16. ábra első sorában (16. A ábra) láthatók az egészséges, tölgyfaspecifikus *A. gallica* törzsek hifái a kontroll tenyészetek esetében, míg a további sorokban a baktériumok által előidézett hifakárosodások figyelhetők meg (pl. ellaposodott, elvékonyodott, kiszáradt és töredezett hifák). Egyes SEM-felvételen (16. B, C, E ábrák) az is látható, hogy a baktériumok képesek megtelepedni a micéliumokon, telepeket létrehozva.

A 16. B ábrán megfigyelhető, hogy a *B. amyloliquefaciens* SZMC 24437 teljes mértékben kolonizálja az *A. gallica* SZMC 24143 hifáit: piros nyíllal jelölve látható, ahogyan a hifákra teljesen rátelepedtek a baktériumok, sárga nyíllal jelölve látható az *A. gallica* károsodott, eldeformálódott hifája, amelyeken szintén megfigyelhetők a megtelepedett baktériumsejtek.

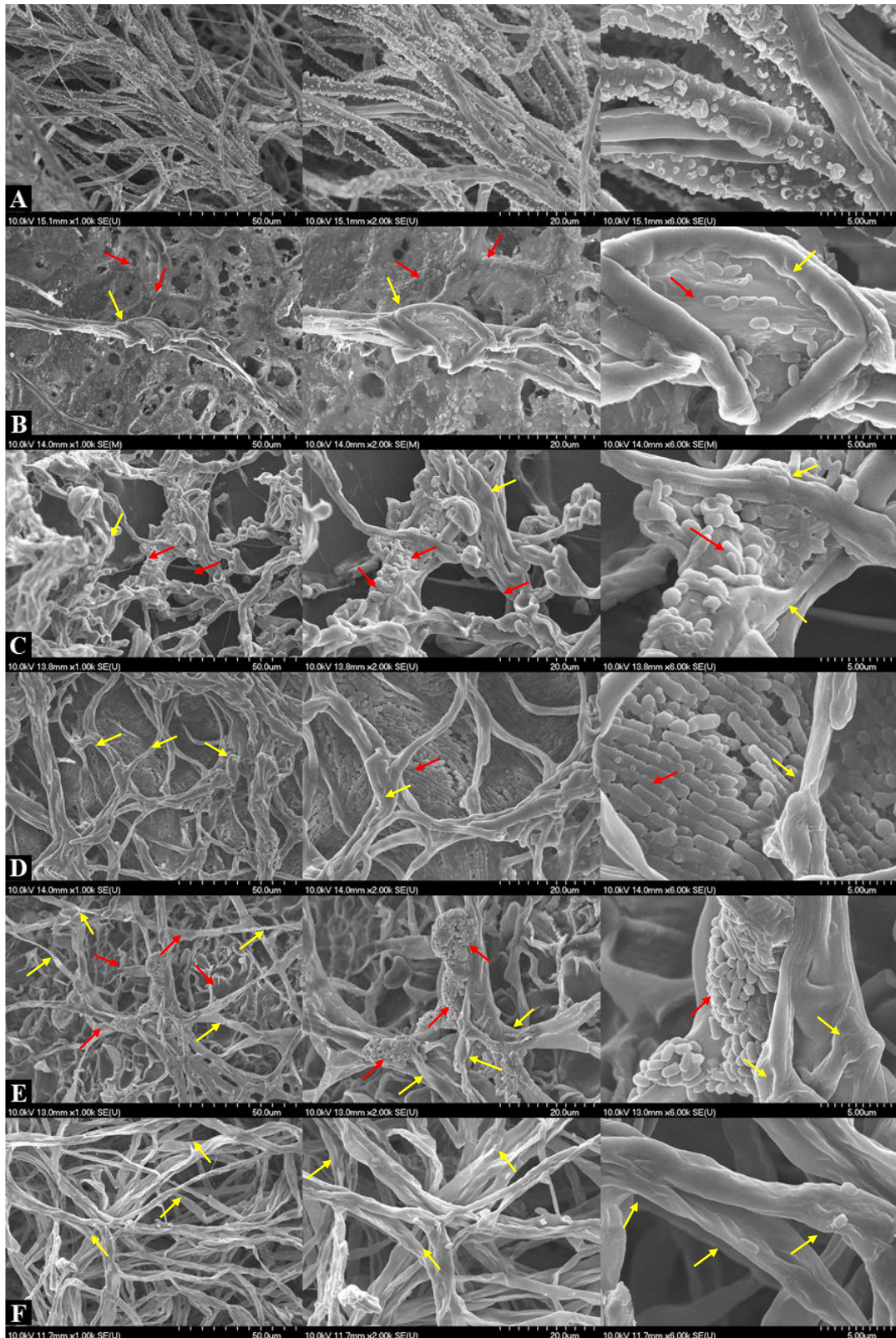
A *B. subtilis* SZMC 24439 (16. C ábra) baktériumtörzs esetében is mindegyik *A. gallica* hifán megfigyelhetők a baktériumok, valamint az ellaposodott, károsodott hifák. A *Pb. castaneae* SZMC 24204 (16. E ábra) esetében szintén megfigyelhetők a károsodott gombahifák, melyeken a baktériumok kiterjedt telepeket képeztek. A *B. amyloliquefaciens* SZMC 24437, *B. subtilis* SZMC 24439 és a *Pb. castaneae* SZMC 24204 törzsek által okozott hifakárosodás többféle mechanizmus révén következhet be. A közvetlen kolonizáció a mikofágia lehetőségét

is felveti, valamint a *Bacillus* fajok számos antifungális metabolitot termelnek, melyek szintén hozzájárulhatnak a gombahifák károsodásához.

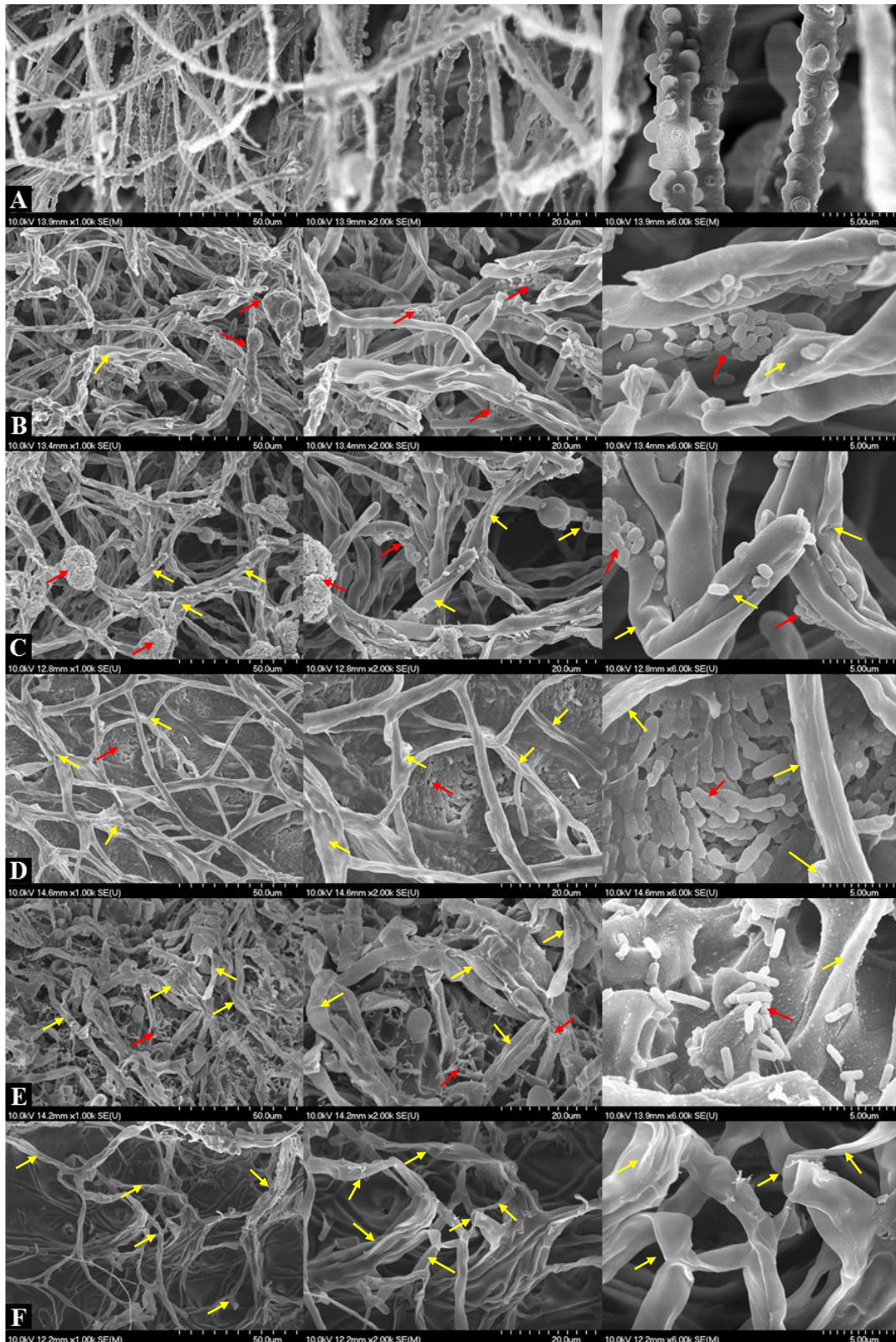
Az *A. gallica*-t a *Ps. fluorescens* SZMC 24428 (16. F ábra) baktériumtörzsszel kezelve a gombamicéliumokon erőteljes károsodás figyelhető meg, de baktériumsejteket nem láttunk a gombamicéliumokon. Azt feltételezzük, hogy ez a törzs olyan metabolitokat termel, amelyek a gombahifák károsodását idézik elő. A *Lysinibacillus* sp. SZMC 24203 gátolta legkevésbé az *A. gallica* növekedését az *in vitro* konfrontációs tesztekben, a SEM-felvételeken a táptalajon elszaporodott baktériumsejtek, mellett így is megfigyelhetőek voltak a hifakárosodások.

Az *A. mellea* SZMC 24131 törzs (17. ábra) antagonizmusát SEM segítségével vizsgálva az *A. gallica* SZMC 24143 törzs eredményeihez hasonló eredményeket kaptunk. A *B. amyloliquefaciens* SZMC 24437, a *B. subtilis* SZMC 24439 és a *Pb. castaneae* SZMC 24204 (17. B, C, E ábra) képesek voltak a gomba hifáit kolonizálni (piros nyíllal jelölve), kisebb-nagyobb telepeket hozva létre, és az összes gombahifán erőteljes károsodást figyeltünk meg (néhány példa sárga nyíllal jelölve).

A *Lysinibacillus* sp. 24203 és a *Ps. fluorescens* SZMC 24428 (17. D, F ábra) esetében is az *A. gallica*-val szembeni antagonizmusához hasonló eredményt kaptunk, egyik esetben sem kolonizálták a baktériumok az *A. mellea* hifáit, de a hifák károsodása itt is megfigyelhető volt (sárga nyíllal jelölve néhány).



16. ábra. Baktériumok *Armillaria gallica* elleni antagonizmusának elektronmikroszkópos felvételei. **A.** *A. gallica* SZMC 24143 kontroll (egészséges hifa), **B.** *A. gallica* SZMC 24143 – *B. amyloliquefaciens* SZMC 24437, **C.** *A. gallica* SZMC 24143 – *B. subtilis* SZMC 24439, **D.** *A. gallica* SZMC 24143 – *Lysinibacillus* sp. SZMC 24203, **E.** *A. gallica* SZMC 24143 – *Pb. castaneae* SZMC 24204, **F.** *A. gallica* SZMC 24143 – *Ps. fluorescens* SZMC 24419. Piros nyíl – baktériumok, sárga nyíl – károsodott *Armillaria* hifák.



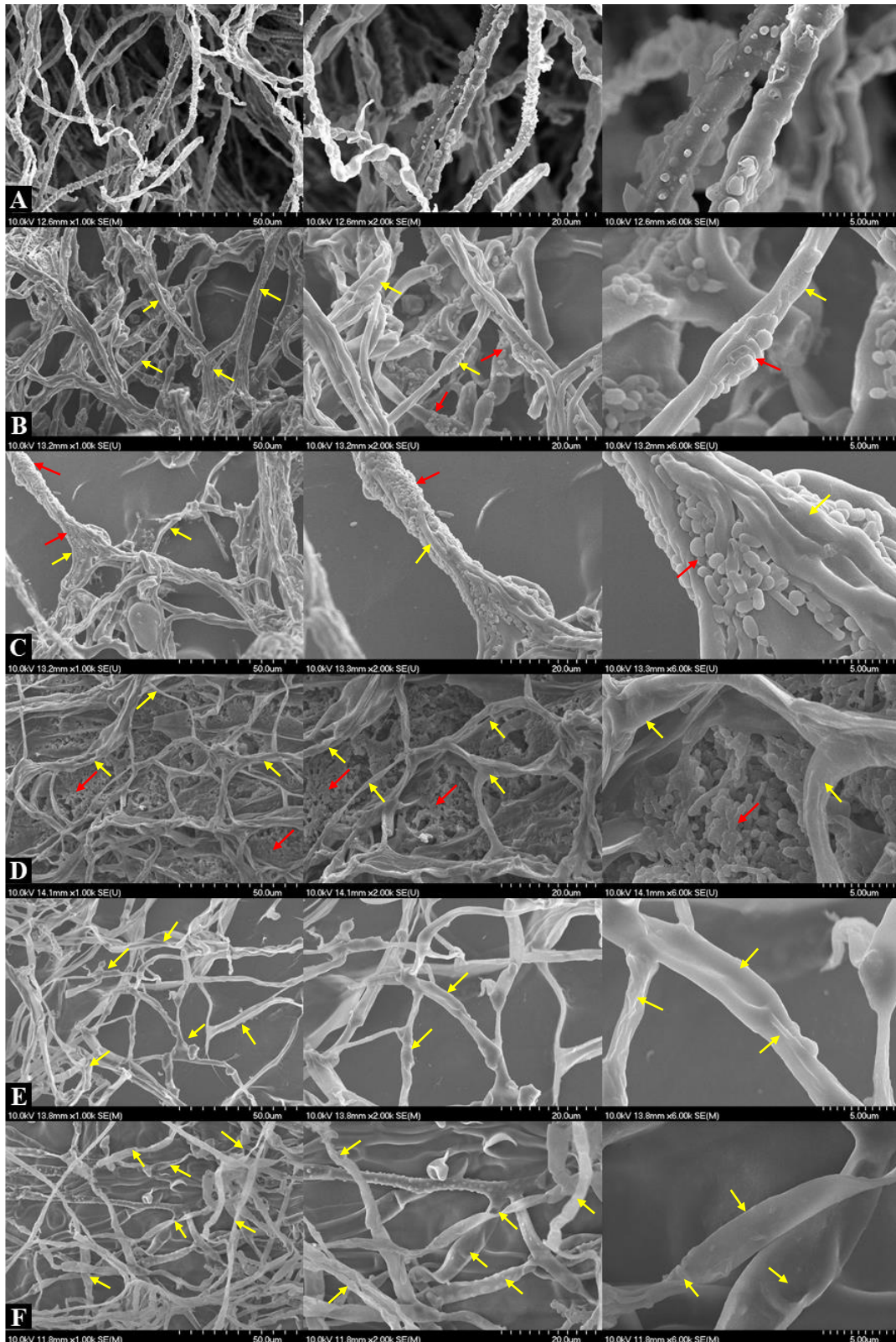
17. ábra. Baktériumok *Armillaria mellea* elleni antagonizmusának elektronmikroszkópos felvételei. **A.** *A. mellea* SZMC 24131 kontroll (egészséges hifa), **B.** *A. mellea* SZMC 24131 – *B. amyloliquefaciens* SZMC 24437, **C.** *A. mellea* SZMC 24131 – *B. subtilis* SZMC 24439, **D.** *A. mellea* SZMC 24131 – *Lysinibacillus* sp. SZMC 24203, **E.** *A. mellea* SZMC 24131 – *Pb. castaneae* SZMC 24204, **F.** *A. mellea* SZMC 24131 – *Ps. fluorescens* SZMC 24419. Piros nyíl – baktériumok, sárga nyíl – károsodott *Armillaria* hifák.

Az *in vitro* antagonizmus elektronmikroszkópos vizsgálatai a fenyőspecifikus *A. cepistipes* SZMC 24125 (18. ábra) és *A. ostoyae* SZMC 24129 (19. ábra) esetében nagymértékben megegyeztek a tölgyfaspecifikus *A. gallica* és *A. mellea* fajokra vonatkozó eredményekkel. Kivételt képezett a *Pb. castaneae* SZMC 24204 (18. E és 19. E ábra) törzs, ahol egyik vizsgált *Armillaria* fajnál sem figyeltünk meg baktériumsejteket a hifák felületén, de jelentős hifakárosodást tapasztaltunk.

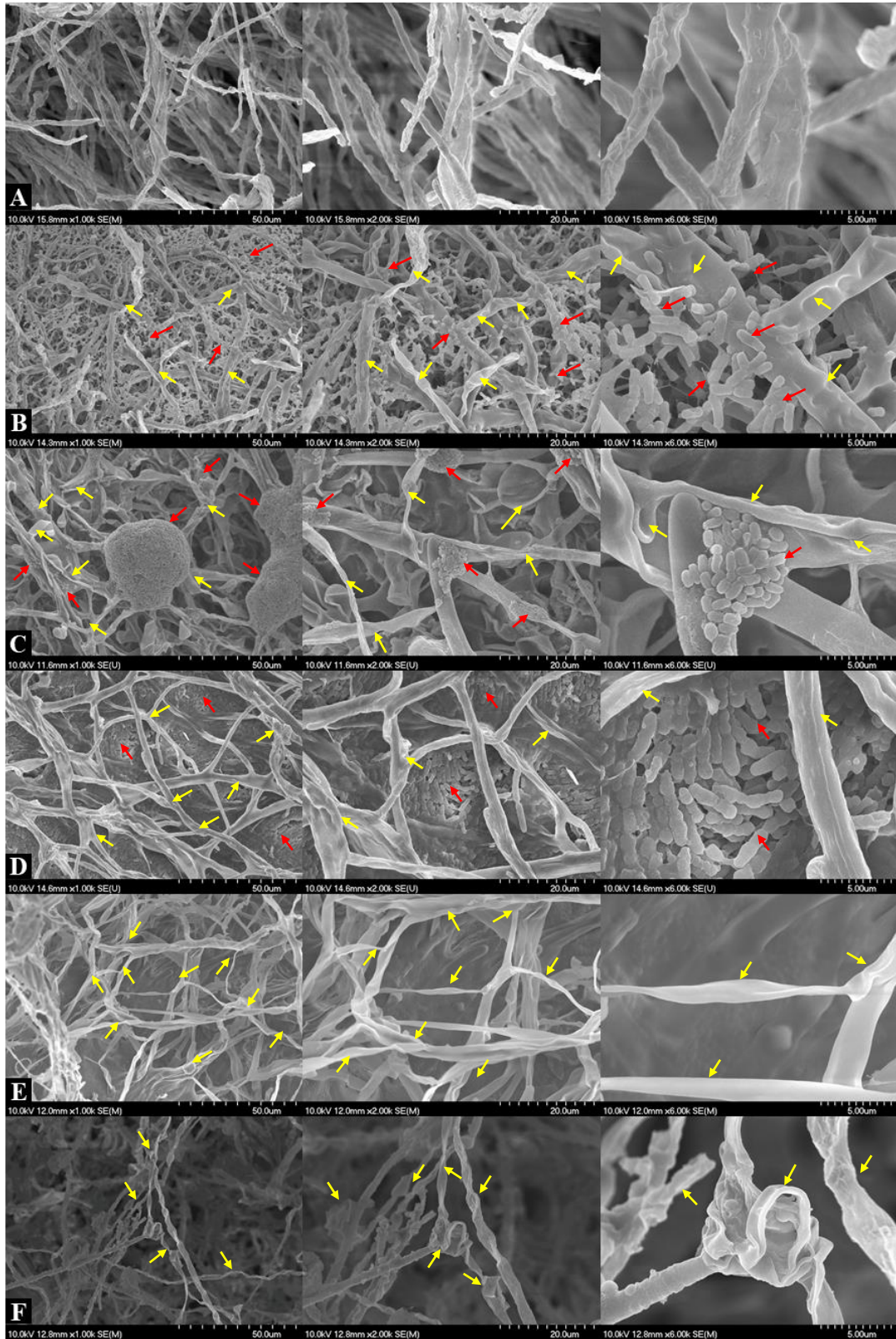
A *B. amyloliquefaciens* SZMC 24437 (18. B, 19. B ábra), a *B. subtilis* SZMC 24439 (18. C, 19. C ábra), a *Lysinibacillus* sp. SZMC 24203 (18. D, 19. D ábra), és a *Ps. fluorescens* SZMC 24428 (18. F, 19. F ábra) törzsek esetében minden vizsgált *Armillaria* fajjal szemben azonos eredményeket kaptunk a konfrontációs tesztek során.

Egy másik megfigyelésünk, hogy a kontroll *Armillaria* felvételein, a gombák hifáin gömb alakú kitüremkedések láthatók, amelyek légzőhifák lehetnek. Ezek a kitüremkedések a baktériumok jelenlétében eltűnnek, csak egyetlen esetben, az *A. cepistipes* *Ps. fluorescens*-szel történő konfrontációjának hatására (18. F ábra) látható a felvételeken néhány ilyen hifa.

A vizsgálatok kimutatták, hogy a különböző baktériumtörzsek eltérő mechanizmusokkal képesek gátolni az *Armillaria* fajok növekedését. Az eredmények rávilágítanak arra, hogy bizonyos baktériumok közvetlenül kolonizálják a gombahifákat, amelyek a mikofágia jele lehetnek, míg mások metabolitok termelésével idéznek elő károsodást, amely az antibiózisra utal. Ezek az ismeretek hozzájárulhatnak a hatékonyabb biokontroll stratégiák kifejlesztéséhez, különösen az erdészeti növényvédelmi programokban.



18. ábra. Baktériumok *Armillaria cepistipes* elleni antagonizmusának elektronmikroszkópos felvételei. **A.** *A. cepistipes* SZMC 24125 kontroll (egészséges hifa), **B.** *A. cepistipes* SZMC 24125 – *B. amyloliquefaciens* SZMC 24437, **C.** *A. cepistipes* SZMC 24127 – *B. subtilis* SZMC 24439, **D.** *A. cepistipes* SZMC 24127 – *Lysinibacillus* sp. SZMC 24203, **E.** *A. cepistipes* SZMC 24127 – *Pb. castaneae* SZMC 24204, **F.** *A. cepistipes* SZMC 24127 – *Ps. fluorescens* SZMC 24419. Piros nyíl – baktériumok, sárga nyíl – a károsodott *Armillaria* hifák.



19. ábra. Baktériumok *Armillaria ostoyae* elleni antagonizmusának elektronmikroszkópos felvételei. **A.** *A. ostoyae* SZMC 24129 kontroll (egészséges hifa), **B.** *A. ostoyae* SZMC 24129 – *B. amyloliquefaciens* SZMC 24437, **C.** *A. ostoyae* SZMC 24129 – *B. subtilis* SZMC 24439, **D.** *A. ostoyae* SZMC 24129 – *Lysinibacillus* sp. 24203, **E.** *A. ostoyae* SZMC 24129 – *Pb. castaneae* SZMC 24204, **F.** *A. ostoyae* SZMC 24129 – *Ps. fluorescens* SZMC 24419. Piros nyíl – baktériumok, sárga nyíl – a károsodott *Armillaria* hifák.

Potenciális biokontroll baktériumok *Armillaria* fajokkal szembeni antagonizmusát legjobb tudomásunk szerint eddig még nem vizsgálták elektronmikroszkóppal. Számos tanulmány azonban SEM segítségével vizsgált különböző baktériumok és fitopatogén gombák közötti kölcsönhatásokat.

Akocak és munkatársai (2015) *Asp. flavus* és *Ps. fluorescens* antagonizmusát vizsgálták SEM-el, melynek eredményeként megfigyelték, hogy az antagonista *Ps. fluorescens* törzs hozzátapadt az *As. flavus* hifáihoz és spórafelszínéhez, gátolta a növekedését, és megváltozott, deformált micéliumhoz vezetett, valamint a hifák részleges szivárgást mutattak. Az általuk vizsgált *Ps. fluorescens* az antagonizmust kitináz enzimtermelése révén valósította meg. Li és munkatársai (2011) a *Sclerotinia sclerotiorum* és a *Ps. fluorescens* közötti antagonista kölcsönhatás SEM-el történő vizsgálata során azt tapasztalták, hogy a *Ps. fluorescens* hatására a gombamicéliumok szabálytalanul eltorzultak, perforálódtak és eltörtek. Ezen baktériumtörzs esetében megfigyelték, hogy kitinázenzimtermelésére nem képes, viszont hidrogén-cianidot termel, melynek szintén fontos szerepe van az antagonizmusban. Laisram és munkatársai (2023) alapján a *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. semitectum* és *F. udum* micéliumai zsugorodást és deformációt mutattak *Ps. fluorescens*-szel történt kezelés hatására, a szerzők a károsító hatást a törzs által termelt másodlagos metabolitoknak tulajdonították.

A *F. cf. incarnatum* növénykórokozó gomba *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*-mal kezelt hifái ráncosodtak, eltorzultak és összezsugorodtak, a hifák egyes részein különböző mértékben baktériumsejtek tapadtak meg (Song és mtsai., 2014). A *F. graminearum* és a *B. subtilis* antagonizmusának SEM megfigyelései azt mutatták, hogy a *F. graminearum* hifái súlyosan károsodtak, felületi zsugorodás és a sejttartalom szivárgása volt megfigyelhető (Li és mtsai., 2020). Hasonló eredményeket Zhao és munkatársai (2014) is megfigyeltek a *F. graminearum* és a *B. subtilis* más izolátumainak vizsgálata során. Gu és munkatársai (2017) a *B. amyloliquefaciens* által termelt bacillomicin D lipopeptid fitopatogén *F. graminearum* hifákra kiváltott hatását vizsgálták SEM-módszerrel. A spórák morfológiai eltérései mikroszkópos megfigyeléssel egyértelműen kimutathatók voltak. A kezeletlen *F. graminearum* micélium szerkezete jól szervezett volt, míg a struktúrák duzzadtnak tűntek bacillomicin D jelenlétében, a konídiumok csírázása gátlódott, és a képződött konídiumok megduzzadtak (Gu és mtsai., 2017). Zhou és munkatársai (2011) kimutatták, hogy a *B. subtilis* morfológiai rendellenességeket és deformációkat idézett elő a *Rhizoctonia stolonifer* szerkezetében, a hifák lízise egyértelműen megfigyelhető volt. Torres és munkatársai (2016) a *Macrophomina phaesolina* hifáinak és szkleróciumainak változásait fedezték fel *B. amyloliquefaciens* és *B.*

subtilis subsp. *subtilis* törzsek hatására. A szerzők által leírtak megegyeztek az általunk vizsgált baktérium- és *Armillaria* törzsek antagonizmusa során megállapított megfigyelésekkel, miszerint a *Bacillus* fajok képesek súlyos károsodásokat okozni a gombák hifáin.

6.5. A baktériumok antagonizmusának molekulaszintű vizsgálata

6.5.1. Másodlagos antifungális metabolitok

6.5.1.1. A *Bacillus* törzsek antifungális metabolitjainak termeléséért felelős gének

Vizsgáltuk a különböző lipopeptid-termelésért felelős gének jelenlétét az általunk izolált *Bacillus* törzsek esetében. A lipopeptidek közül a fengicin, a szurfaktin, a mikoszubtilin és a bacillomicin szintéziséért felelős gének jelenlétét specifikus primerek és PCR segítségével detektáltuk.

A *B. amyloliquefaciens* SZMC 24437, *B. subtilis* SZMC 24200 és *B. subtilis* SZMC 24440 törzsek az összes általunk vizsgált lipopeptid szintéziséért felelős génnel (bacillomicin - *BamC*, mikoszubtilin - *mycA*, fengicin - *fenB*, szurfaktin - *sfp*), rendelkezett. A *B. subtilis* SZMC 24183 nem rendelkezik bacillomicin szintéziséért felelős *BamC* génnel, valamint a *B. subtilis* SZMC 24439 esetében sem mikoszubtilin (*mycA*), sem bacillomicin (*BamC*) szintéziséért felelős gént nem detektáltunk.

6. táblázat: *Bacillus* törzsek antifungális aktivitásért felelős metabolitok szintéziséért felelős gének jelenléte

Baktériumtörzsek	Fengicin	Szurfaktin	Mikoszubtilin	Bacillomicin
<i>B. amyloliquefaciens</i> SZMC 24437	+	+	+	+
<i>B. subtilis</i> SZMC 24183	+	+	+	-
<i>B. subtilis</i> SZMC 24200	+	+	+	+
<i>B. subtilis</i> SZMC 24439	+	+	-	-
<i>B. subtilis</i> SZMC 24440	+	+	+	+

Számos tanulmány foglalkozik a *Bacillus* fajok lipopeptid-termelésének vizsgálatával (Singh és mtsai., 2014; Nihorimbere és Ongena 2017; Ait Kaki és mtsai., 2013; Zouari és mtsai., 2016; Wang és mtsai., 2015; Dimkić és mtsai., 2022). A *Bacillus* fajok lipopeptid-termelésével kapcsolatos szakirodalomban számos olyan kutatási eredmény lelhető fel, amelyek arra utalnak, hogy ezek a mikroorganizmusok gyakran a jelen lévő patogénekre adott válaszként termelnek lipopeptideket. Ongena és Jacques (2008) rámutatott, hogy a *Bacillus* fajok különféle biotikus és abiotikus stresszhatásokra – beleértve a patogénekkal való érintkezést is – fokozott lipopeptid-termeléssel reagálnak. A lipopeptidek nemcsak közvetlenül gátolják a patogének

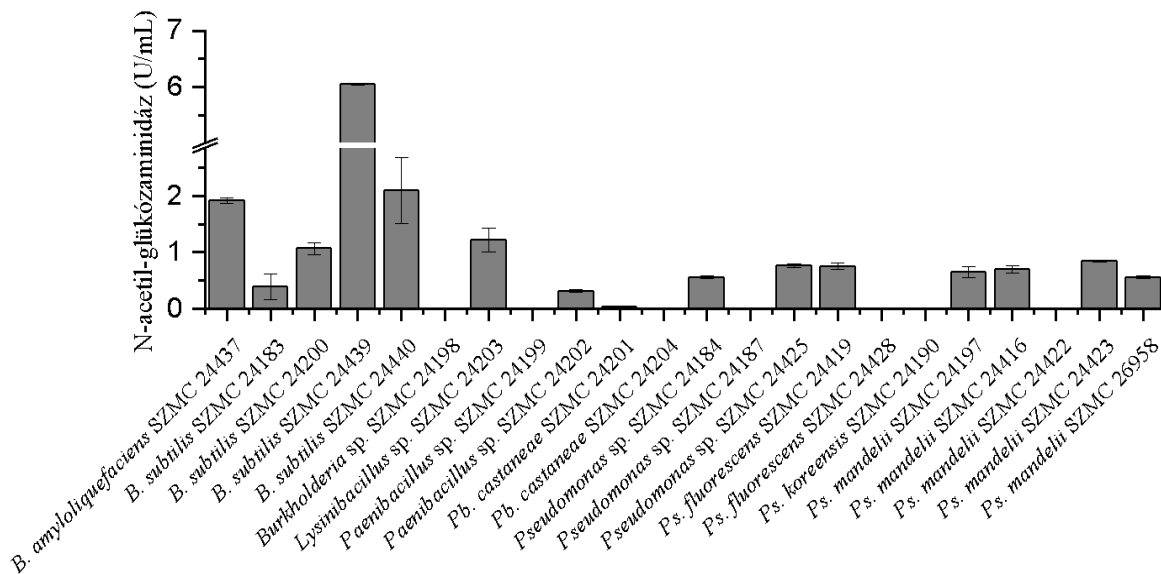
növekedését, hanem a növények védelmi mechanizmusait is indukálják (Gond és mtsai., 2015; Ongena és Jacques, 2008).

6.5.2. A baktériumtörzsek kitináz enzim termelésére való képessége

Vizsgálataink során mértük a baktériumtörzsek által termelt N-acetil- β -D-glükózaminidáz enzim mennyiségét (20. ábra). Az N-acetil- β -D-glükózaminidázok a kitináz enzimek közé tartoznak, a kitinláncról N-acetil- β -D-glükózamin monomereket hasítanak le.

A vizsgált baktériumtörzsek közül N-acetil- β -D-glükózaminidáz enzimaktivitással az összes *Bacillus* törzs rendelkezik, valamint egy *Paenibacillus* sp. (SZMC 24202) és 7 *Pseudomonas* (*Pseudomonas* sp. SZMC 24184, SZMC 24425, *Ps. fluorescens* SZMC 24419, *Ps. mandelii* SZMC 24197, SZMC 24416, SZMC 24423, SZMC 26958). Ezek közül a *B. subtilis* SZMC 24439 termelte a legnagyobb mennyiséget ($6,04 \pm 0,00818$ U/mL). Nem termeltek N-acetil- β -D-glükózaminidáz enzimet a *Burkholderia* sp. SZMC 24198, *Paenibacillus* sp. SZMC 24199, *Pb. castaneae* SZMC 24204, *Pseudomonas* sp. SZMC 24187, *Ps. koreensis* SZMC 24188 és a *Ps. mandelii* SZMC 24422 törzsek.

Azok a baktériumtörzsek (20. ábra), amelyek nagyobb mennyiségű N-acetil- β -D-glükózaminidáz enzimet termeltek, az *Armillaria* fajok ellen hatékonyabb antagonistának bizonyultak, mint azok, amelyek nem termelték ezt az enzimet (14. B ábra). Például az összes vizsgált *Bacillus* törzs (*B. amyloliquefaciens* SZMC 24437, *B. subtilis* SZMC 24183, SZMC 24200, SZMC 24439, SZMC 24440) a *Paenibacillus* sp. SZMC 24202, a *Pseudomonas* sp. SZMC 24184, SZMC 24425, a *Ps. fluorescens* SZMC 24419, és a *Ps. mandelii* SZMC SZMC 26958 termelt N-acetil- β -D-glükózaminidáz enzimet, és ezeknek a törzseknek az átlagos *Armillaria* növekedésgátlása 82% fölött volt. Gyenge *Armillaria* növekedésgátlást figyeltünk meg azon törzsek esetében, amelyek nem termeltek N-acetil- β -D-glükózaminidáz enzimet (*Burkholderia* sp. SZMC 24198, *Pb. castaneae* SZMC 24201 és SZMC 24204, *Pseudomonas* sp. SZMC 24187).

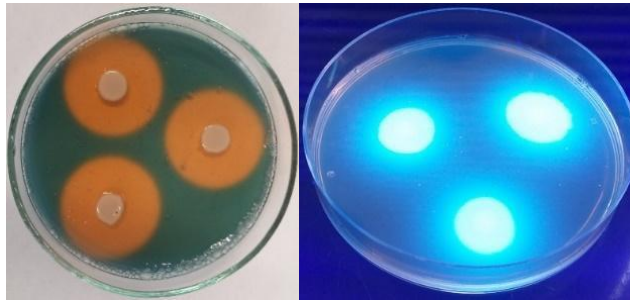


20. ábra. A vizsgált baktériumtörzsek N-acetil-β-D-glükózaminidáz termelése. (Átlag ± SD, n=3).

Eredményeink összhangban állnak más tanulmányokkal, amelyek szintén kimutatták a kitináz enzimek, köztük az N-acetil-β-D-glükózaminidáz szerepét a biokontrollban. Swain és munkatársai (2008) például arról számoltak be, hogy a *B. subtilis* izolátumok hatékonyan gátolták a *F. oxysporum* és a *Botryodiplodia theobromae* növekedését yam növényeken (*Dioscorea bulbifera*) a kitináz enzim aktivitásának köszönhetően. A pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálatok megerősítették a gombasejtfalak teljes lízisét, ami alátámasztja, hogy a kitináz enzimek kulcsszerepet játszanak a gombasejtfalak lebontásában és ezáltal a patogén gombák növekedésének gátlásában. Essghaier és munkatársai (2012) is hasonló eredményeket értek el, amikor *B. subtilis* törzset használták a *Bot. cinerea* elleni biokontroll szerként szamócán, a kitináz enzim aktivitásának köszönhetően. Emellett Pellegrini és munkatársai (2013) megfigyelték, hogy a vizsgált *Ps. fluorescens* kitináz enzimszekréciója szignifikánsan megnőtt az *A. mellea* jelenléte hatására.

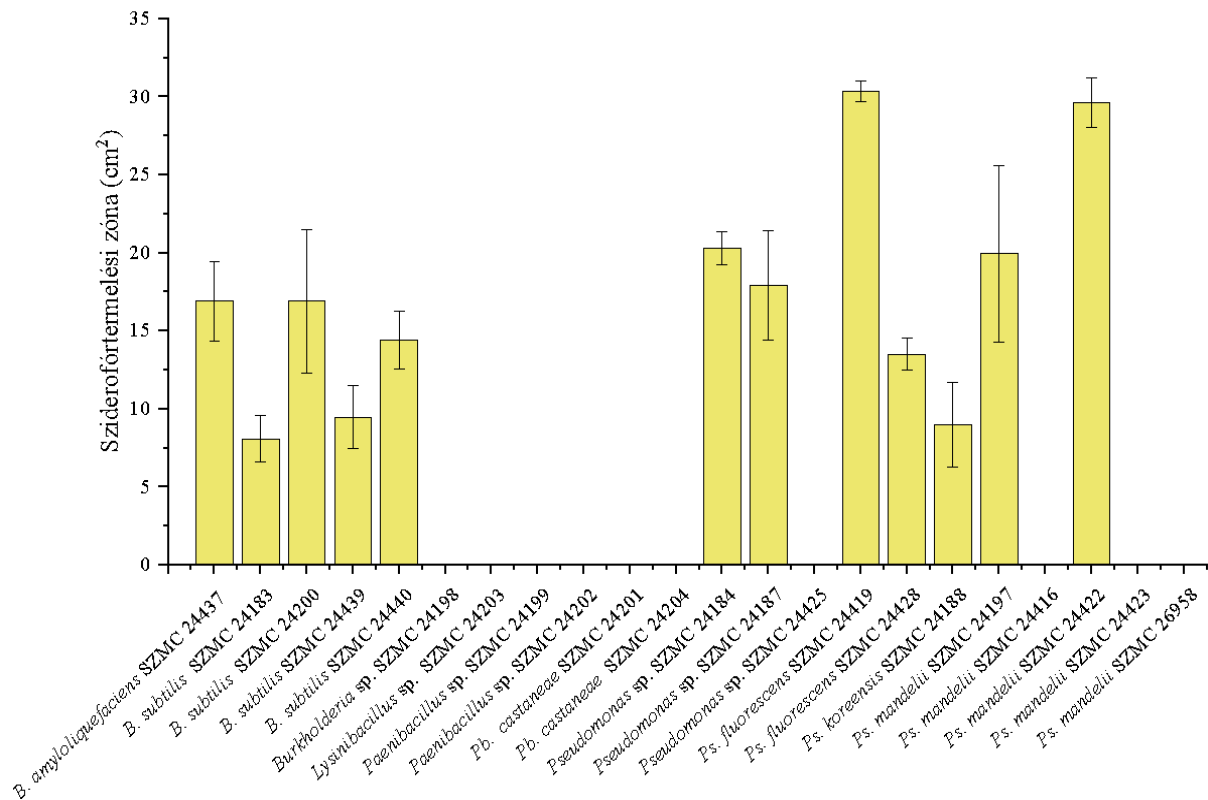
6.5.3. A baktériumtörzsek sziderofórtermelése

A sziderofórtermelő mikroorganizmusok kettős szerepet töltenek be: egyrészt vassal látják el a növényt, másrészt visszaszorítják a fitopatogének szaporodását a növény gyökérszónájában azáltal, hogy felveszik a rendelkezésre álló vasat a környezetből (Beneduzi és mtsai., 2012). Az izolált baktériumok sziderofórtermelését krómazurol-S (CAS) és vas(III)-kloridot tartalmazó táptalajon értékeltük. A sziderofórtermelés jele a baktériumtelepek körül megjelenő narancssárga gyűrű volt, amelyet az inkubációs periódus végén mértünk.



21. ábra. A *Ps. fluorescens* SZMC 24419 sziderofórtermelése krómazurol-szulfonsavat (CAS) tartalmazó táptalajon, természetes fényben (balra) és UV-lámpa alatt (jobbra).

A 22 baktériumtörzsből 12 termelt sziderofórt, legnagyobb mennyiségben a *Pseudomonas* fajok (22. ábra), de a *Bacillus* fajok sziderofórtermelésének mértéke sem elhanyagolható, az összes általunk vizsgált *Bacillus* törzs képesnek bizonyult sziderofórtermelésre. A *Paenibacillus*, *Burkholderia* és *Lysinibacillus* törzsek viszont nem termeltek sziderofórokat. Legmagasabb sziderofórtermelést a *Ps. fluorescens* SZMC 24419 baktériumtörzsnél figyeltünk meg, $30,33 \pm 0,67 \text{ cm}^2$ volt a telep körüli sárga zóna területe.



22. ábra. A baktériumtörzsek sziderofórtermelési zónájának területe krómazurol-szulfonsavat (CAS) tartalmazó táptalajon. (Átlag \pm SD, n=3).

A szakirodalomban számos tanulmány beszámolt a *Bacillus* és *Pseudomonas* fajok sziderofórtermeléséről. Etesami és munkatársai (2023) összefoglaló tanulmányukban összegyűjtötték az ismert sziderofórtermelő *Bacillus* fajokat, melyek a *B. subtilis*, *B. anthracis*,

B. cereus, *B. thuringiensis*, *B. velezensis*, *B. mojavensis*, *B. atrophaeus*, *B. pumilus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, és *B. halodenitrificans*. Ezen fajok nagy része katekol-típusú bacillibaktint termel. Beszámoltak továbbá arról is, hogy a sziderofórtermelő *Bacillus* törzsek magas antagonista képességgel rendelkeztek a növénypatogén gombákkal szemben (Etesami és mtsai., 2023). Yu és munkatársai (2011) jelentős bacillibaktin-termelést figyeltek meg egy *B. subtilis* törzsben. Kutatásuk során kimutatták, hogy a törzs indukált szisztémás rezisztenciát vált ki, csökkentve a *F. oxysporum* f. sp. *capsici* által okozott rothadás előfordulását paprikán, a vaspótlás csökkentette a biokontroll hatást. A kezelt növények szignifikánsan magasabbak voltak a kezeletlen kontroll növényekhez képest. A törzs továbbá hozzájárult a virágzási idő lerövidüléséhez, a termések átlagos súlyának növekedéséhez és a hozam növeléséhez. Patil és munkatársai (2014) a *B. subtilis* hidroxamát-típusú sziderofórtermelését hozták összefüggésbe a *F. oxysporium* f. sp. *ciceri* és *M. phaseolina* fitopatogének gátlásával.

Valencia-Cantero és munkatársai (2005) burgonyanövények rizoszférájából jó pszeudobaktin-típusú sziderofórtermelő *Pseudomonas* törzseket izoláltak. Ezek a törzsek hatékonyan gátolták a patogének, mint például a *F. oxysporum*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Col. gloeosporioides* és *Phytophthora cinnamomi* növekedését. Készítettek egy sziderofórszintézisre képtelen mutáns törzset, amely eltérő gátló hatást mutatott a vad típusú törzshöz képest. A mutáns törzs gátolta a *F. oxysporum* növekedését, de nem volt hatékony a többi patogén ellen, így arra a következtetésre jutottak, hogy a sziderofórok fontosak bizonyos patogének gátlásában, de más metabolitok is szerepet játszhatnak a fitopatogének növekedésének gátlásában.

6.6. A potenciális biokontroll baktériumtörzsek növénynövekedést serkentő vegyületek termelésére való képessége

6.6.1. A baktériumtörzsek strukturális szénhidrátbontó enzimek termelésére való képessége

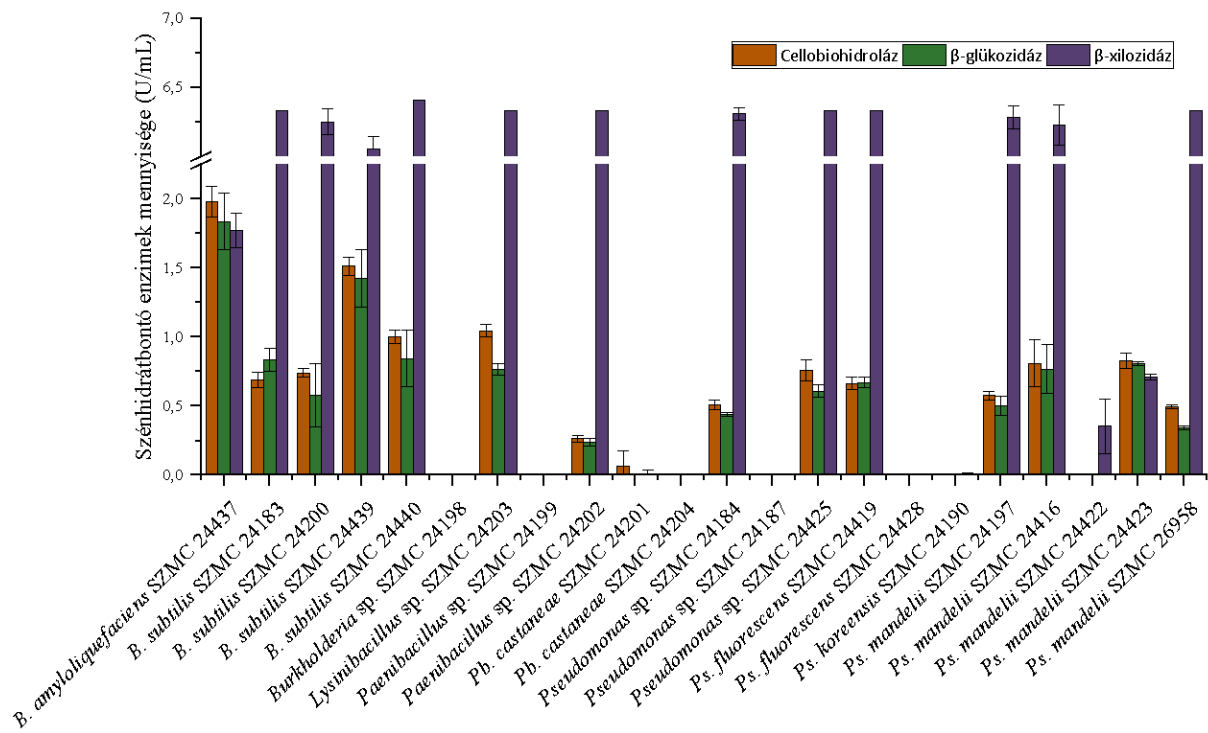
Vizsgáltuk a különböző baktériumtörzsek cellobiohidroláz és β -glükozidáz aktivitását, illetve β -xilozidáz enzimaktivitásaikat is. A cellulóz enzimátikus bontását részben az exoglükánázok végzik, melyeket más néven cellobiohidrolázoknak neveznek. A cellobiohidrolázok a láncok végeiről glükóz dimereket hasítanak le. A cellulóz lebontásában résztvevő enzim a β -glükozidáz is, amely a β -glükozidok bontásában vesz részt, ami szintén fontos a cellulóz lebontásában. A β -xilozidáz enzim a xilánok lebontásában vesz részt, amelyek a hemicellulóz komponensei.

Eredményeink alapján 4 baktériumtörzs (*B. amyloliquefaciens* SZMC 24437, *B. subtilis* SZMC 24439, *B. subtilis* SZMC 24440, *Lysinibacillus* sp. SZMC 24203) rendelkezik kiemelkedő strukturális szénhidrátbontó enzimtermeléssel (23. ábra). 14 baktériumtörzs termelte mindhárom általunk vizsgált extracelluláris enzimet. A *Burkholderia* sp. SZMC 24198, a *Paenibacillus* sp. SZMC 24199, a *Pb. casteneae* SZMC 24204, a *Pseudomonas* sp. SZMC 24187 és a *Ps. fluorescens* SZMC 24428 egyik általunk vizsgált enzimet sem termelte.

Cellobiohidroláz enzimet 15 baktériumtörzs termelt, közülük kiemelkedő mennyiséget a *B. amyloliquefaciens* SZMC 24437 ($1,98 \pm 0,11$ U/mL), a *B. subtilis* SZMC 24439 ($1,51 \pm 0,06$ U/mL), a *B. subtilis* SZMC 24440 ($1,00 \pm 0,05$ U/mL), a *Lysinibacillus* sp. SZMC 24203 ($1,04 \pm 0,04$ U/mL), a *Ps. mandellii* SZMC 24416 ($0,81 \pm 0,16$ U/mL) és a *Ps. mandellii* SZMC 24423 ($0,82 \pm 0,05$ U/mL). A 4 *Paenibacillus* törzs közül két törzs termelt cellobiohidrolázt, de a *Paenibacillus* sp. SZMC 24202 és a *Pb. casteneae* SZMC 24201 csak kis mennyiségben.

β -glükozidáz enzimet 14 baktériumtörzs termelt, kimagasló β -glükozidáz enzimtermelést szintén a *Bacillus* törzsek esetében mértünk (*B. amyloliquefaciens* SZMC 24437: $1,83 \pm 0,11$ U/mL, *B. subtilis* SZMC 24439: $1,15 \pm 0,06$ U/mL, *B. subtilis* SZMC 24440: $0,84 \pm 0,2$ U/mL, *B. subtilis* SZMC 24183: $0,83 \pm 0,08$ U/mL) valamint a *Ps. mandellii* SZMC 24423.

A baktériumtörzsek a vizsgált strukturális szénhidrátbontó enzimek közül β -xilozidáz enzimet termelnek legnagyobb mennyiségben, 15 baktériumtörzs közül 12 baktériumtörzs termelt jelentősebb (6 U/mL feletti) mennyiségű β -xilozidázt. A *Bacillus* fajok közül mindegyik magas β -xilozidáz enzimaktivitással rendelkezett, hasonlóan a *Lysinibacillus* sp. SZMC 24203, a *Paenibacillus* sp. SZMC 24202, a *Ps. fluorescens* SZMC 24225 és SZMC 24419, valamint a *Ps. mandellii* SZMC 24197, SZMC 24416 és SZMC 26958 törzsekhez.



23. ábra. A vizsgált baktériumtörzsek extracelluláris szénhidrátbontó enzimaktivitásai. (Átlag ± SD, n=3).

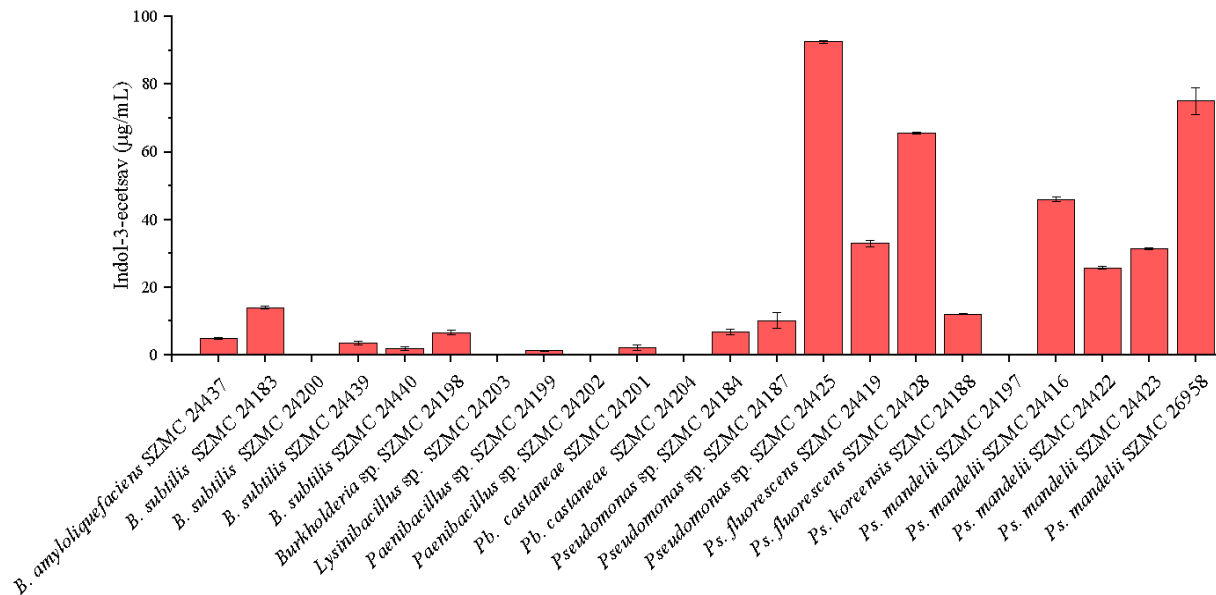
A baktériumok különböző tenyésztési körülmények között, és növényi anyagon eltérő mennyiségű extracelluláris enzimet termelnek. Sethi és munkatársai (2013) *Ps. fluorescens*, *B. subtilis*, *E. coli* és *S. marcescens* törzsek celluláz enzimtermelésének optimalizálását végezték el, esetükben az optimális tenyésztési körülmények között a *B. subtilis* 1,1 U/mL, a *Ps. fluorescens* 1,5 U/mL celluláz enzimet termelt. Az általunk vizsgált *B. subtilis* törzsek esetében 0,68-1,51 U/mL közötti, a *Ps. fluorescens* SZMC 24419 0,66 U/mL mennyiségű enzimtermelést mértünk. Viswanath és munkatársai (2018) a *Ps. fluorescens* celluláz enzimtermelését vizsgálták különböző mezőgazdasági hulladékok lebontása során, és 0,23-0,48 U/mL mennyiségű enzimtermelést figyeltek meg.

6.6.2. A baktériumtörzsek indolecetsav-termelése

Az indolecetsav (IES) egy auxin-típusú növényi hormon, amely fontos szerepet játszik a növénynövekedés és fejlődés szabályozásában. A gyökérszónában élő mikroorganizmusok által termelt IES különösen fontos lehet a növények számára, mivel közvetlenül befolyásolja a gyökernövekedést, a tápanyagok felvételét és a növények általános egészségi állapotát.

A *Pseudomonas* sp. SZMC 24425 ($92,67 \pm 0,36 \mu\text{g/mL}$), a *Ps. mandelii* SZMC 26958 ($65,65 \pm 0,25 \mu\text{g/mL}$) és a *Ps. fluorescens* SZMC 24428 ($75,11 \pm 4,04 \mu\text{g/mL}$) törzsek mutatták a legmagasabb IES-termelést, mindhárom jelentősen kiemelkedett a többi vizsgált törzs közül

(24. ábra). A *Ps. fluorescens* SZMC 24419, a *Ps. mandelii* SZMC 24416, a *Ps. mandelii* SZMC 24422, és a *Ps. mandelii* SZMC 24423 törzsek is jelentős, de mérsékelt IES-termelést mutattak. A többi vizsgált törzs kis mennyiségben termelt IES-t, kivéve a *B. subtilis* SZMC 24200, *Lysinibacillus* sp. SZMC 24203, *Paenibacillus* sp. SZMC 24202, *Pb. castaneae* SZMC 24204 és *Ps. mandelii* SZMC 24197 törzseket, melyek nem termeltek IES-t.



24. ábra. A vizsgált baktériumtörzsek indol-ecetsav termelése. (Átlag \pm SD, n=3).

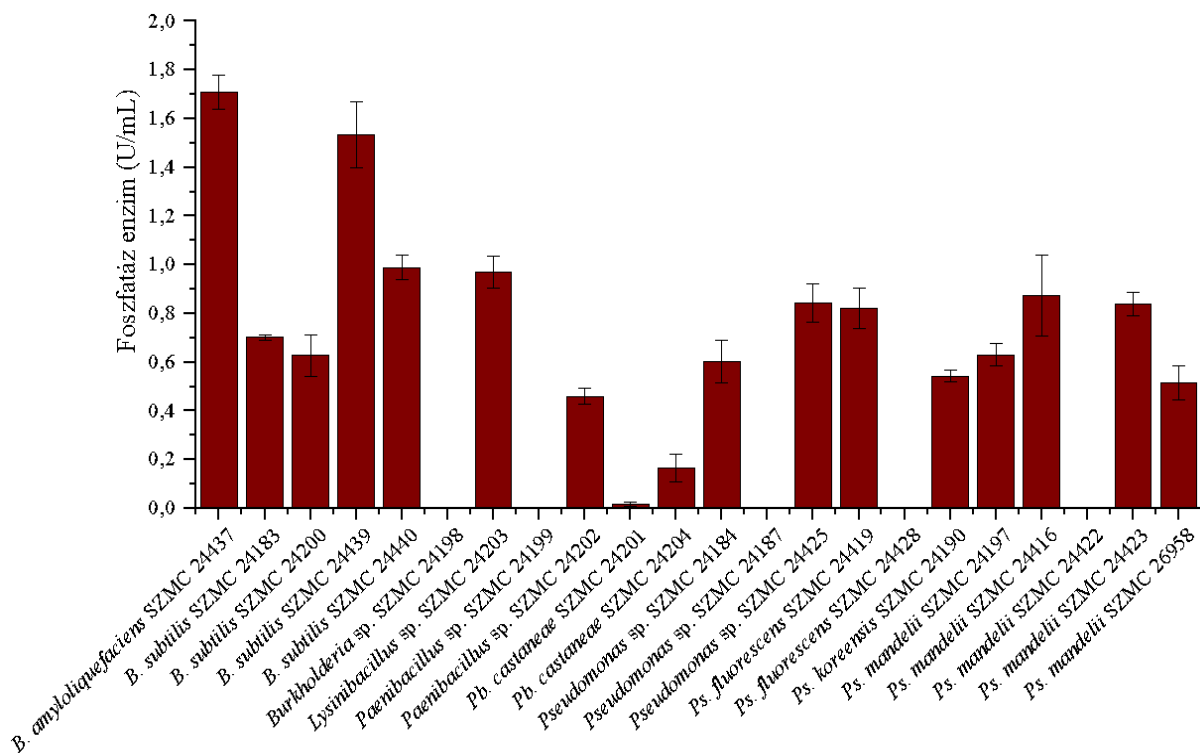
A szakirodalomban fellelhető, ugyanazon módszerrel mért IES-termelési vizsgálatok eredményei alapján az általunk izolált baktériumtörzsek kiemelkedő IES-termelő képességgel rendelkeznek, mivel a *Ps. fluorescens* esetében Dey és munkatársai (2004) 3,6-11,8 $\mu\text{g/mL}$, Maleki és munkatársai (2010) pedig 15,3 $\mu\text{g/mL}$ IES-termelést mértek. Ahmad és munkatársai (2008) *Pseudomonas* törzsek esetében 18,7-22,02 $\mu\text{g/mL}$ IES-termelést mértek 500 $\mu\text{g/mL}$ triptofán adagolásának hatására, valamint egy *Bacillus* törzs 7,03 $\mu\text{g/mL}$ IES-t termelt. Zhang és munkatársai (2011) 9,3 $\mu\text{g/mL}$ -t mértek egy *Pseudomonas* törzs esetében. Ali és munkatársai (2009) *Bacillus* fajok IES-termelését mérték, és a *B. subtilis* törzsek 48-65 $\mu\text{g/mL}$ IES-t termeltek 1000 $\mu\text{g/mL}$ triptofán adagolásának hatására. Az összes szerző azon következtetésre jutott, hogy a jobb IES-termelő törzsek szignifikánsan javították a növények növekedését.

6.6.3. A baktériumtörzsek foszformobilizáló képessége

A mikroorganizmusok által termelt foszfatáz enzimek szerepet játszanak a szerves foszforvegyületek lebontásában és oldható, a növények számára felvehető formává alakításában. A talajban lévő foszfor jelentős része szerves formában van jelen, amely közvetlenül nem áll rendelkezésre a növények számára (Hayat és mtsai., 2010). A foszfatáz

enzimek hidrolízissal lebontják ezeket a szerves vegyületeket, felszabadítva a foszfor anionokat, amelyeket a növények könnyen fel tudnak venni. A foszfatáz enzimek növelik a növények számára hozzáférhető foszfor mennyiségét, javítják a talaj termékenységét, támogatják a növények és mikrobák közötti szimbiózisokat, mindezek révén serkentve a növények növekedését és fejlődését (Pérez-Montaña és mtsai., 2014).

Magasabb foszfatáz enzimaktivással főleg a *Bacillus* nemzetséghez tartozó törzsek rendelkeztek, a legnagyobb mennyiségű foszfatáz enzimet a *B. amyloliquefaciens* SZMC 24437 ($1,71 \pm 0,07$ U/mL) és a *B. subtilis* SZMC 24439 ($1,53 \pm 0,13$ U/mL) termelte, továbbá magas foszfatáz enzimaktivitása volt a *B. subtilis* SZMC 24440 ($0,98 \pm 0,05$ U/mL), a *Lysinibacillus* sp. SZMC 24203 ($0,97 \pm 0,06$ U/mL), és a *Ps. mandelii* SZMC 24197 ($0,97 \pm 0,04$ U/mL) törzseknek (25. ábra).

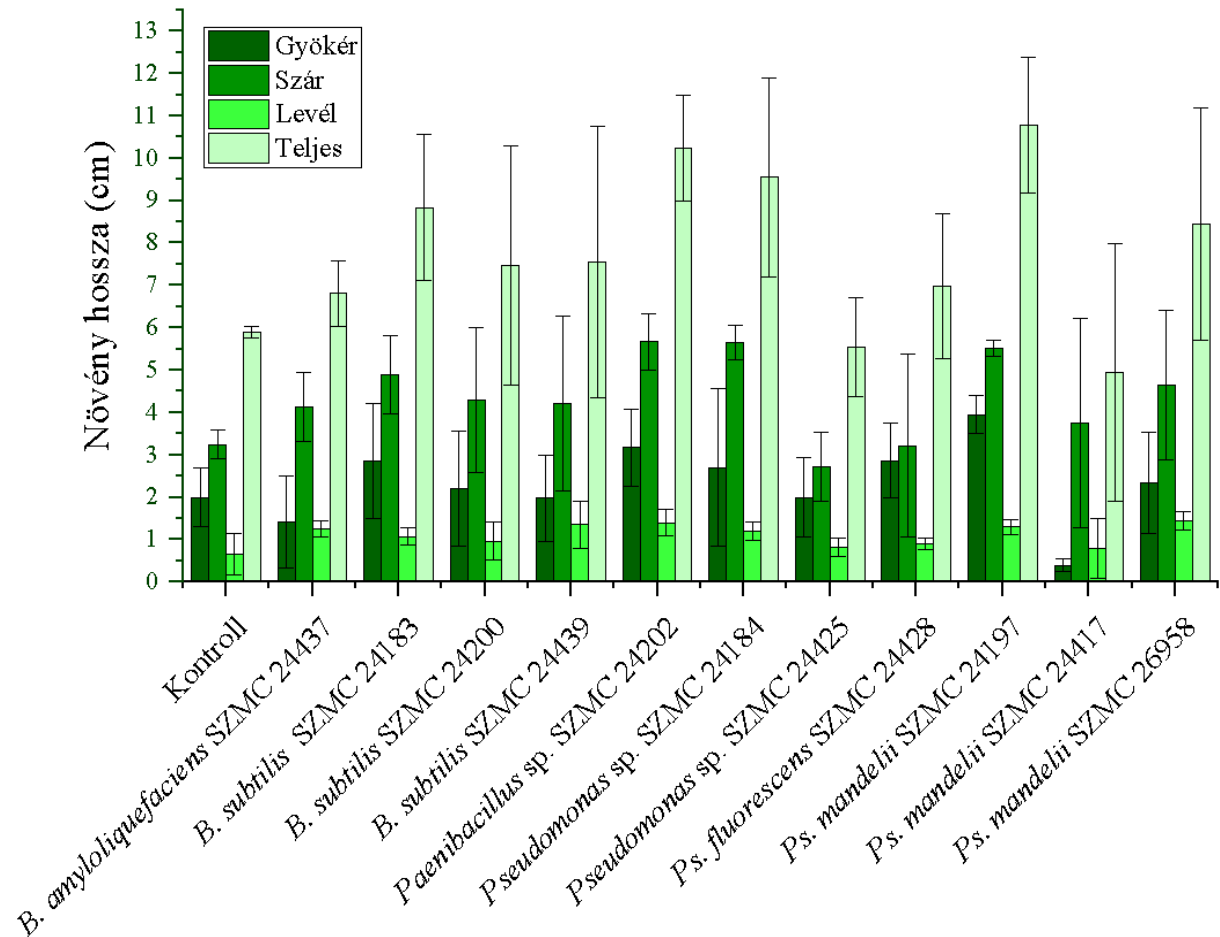


25. ábra. A vizsgált baktériumtörzsek foszfatáz enzimaktivitásai. (Átlag ± SD, n=3).

Számos tanulmány kimutatta, hogy a foszformobilizáló baktériumoknak szignifikáns növénynövekedést serkentő hatása van. Ahmad és munkatársai (2019) például két foszformobilizáló baktérium (*B. aryabhatai*, *B. subtilis*) növénynövekedést serkentő hatását vizsgálták mungóbabon és kukoricán, és arra a következtetésre jutottak, hogy a foszformobilizáló baktériumok szignifikáns növénynövekedés-serkentést eredményeztek, valamint a foszforkoncentrációt 44%-al növelték a mungóbab- és kukoricaajtásokban.

6.7. Potenciális biokontroll baktériumtörzsek fenyőmagok csírázásának serkentésére való képessége

Vizsgáltuk a baktériumtörzsek serkentő hatását a fenyőmagok csírázására. A kontrollhoz viszonyítva az összes vizsgált baktériumtörzs serkentette a fenyőmagok csírázását (26. ábra). Ez a növekedést serkentő hatás azonban statisztikailag nem bizonyult szignifikánsnak.



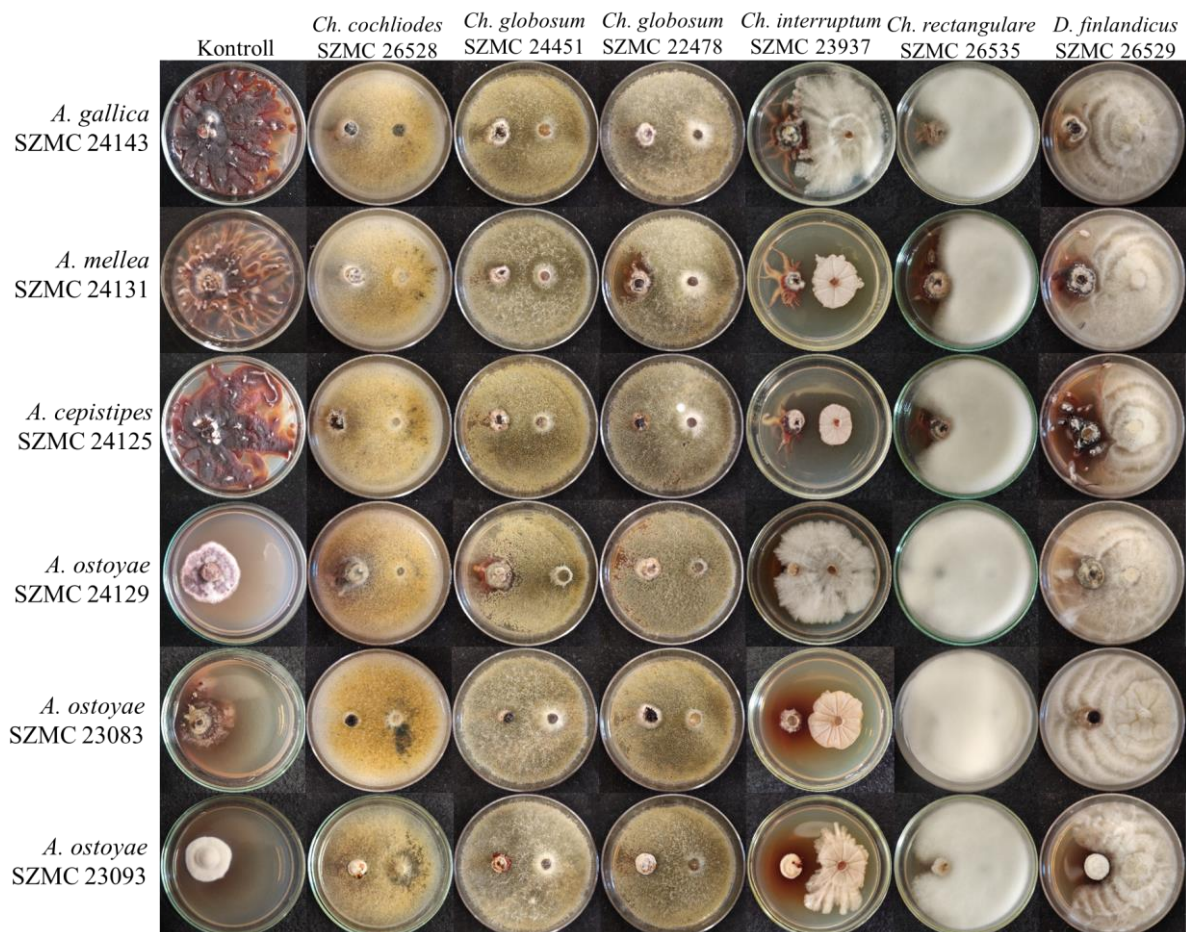
26. ábra. A baktériumtörzsek hatása a fenyőmagok csírázására. (Átlag \pm SD, n=10).

6.8. A szelektált gombatörzsek *in vitro* antagonizmusa *Armillaria* fajokkal szemben

6.8.1. *In vitro* antagonizmus konfrontációs tenyésztéssel

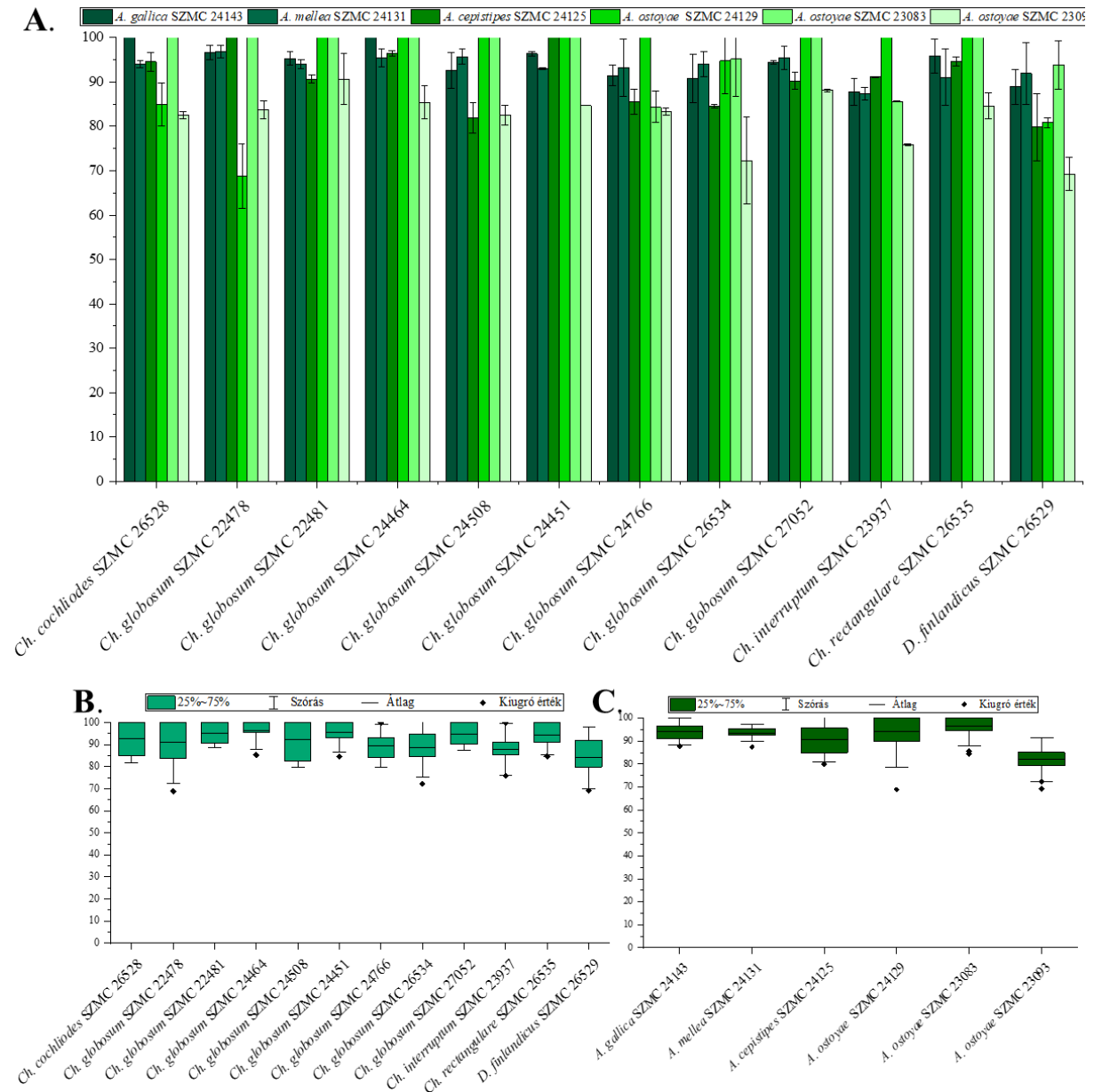
Az *in vitro* antagonizmus-vizsgálatokat 12 *Chaetomium* és *Dichotomopilus* törzssel végeztük el 6 *Armillaria*-val (*A. gallica* SZMC 24143, *A. mellea* SZMC 24131, *A. cepistipes* SZMC 24647, *A. ostoyae* SZMC 24648, SZMC 23083, SZMC 23093) szemben.

A 27. ábrán az antagonizmus-vizsgálatok eredményeit szemlélteti néhány példával. Az első oszlopban láthatók a kontroll *Armillaria* tenyészetek 3 hét inkubálást követően, a többi oszlopban pedig a *Chaetomium* és *Dichotomopilus* törzsek *Armillaria* törzsekkel szembeni konfrontációs vizsgálatának eredményei. Mivel az *Armillaria* lassan növekszik, ezért az *Armillaria* törzseket előneveltük, mindegyik *Armillaria* tenyészetet 1 hétig inkubáltuk 25 °C-on, sötétben, majd ezt követően oltottuk le melléjük a *Chaetomium* illetve *Dichotomopilus* törzseket és további 2 hétig inkubáltuk a Petri-csészéket. Az ábrán megfigyelhető, hogy a *Chaetomium* fajok képesek teljesen ránövekedni az *Armillaria* telepekre.



27. ábra. A *Chaetomium* és *Dichotomopilus* törzsek *in vitro* antagonizmusa *Armillaria* törzsekkel szemben.

Az összes vizsgált *Chaetomium* és *Dichotomopilus* törzs 80% feletti mértékben gátolta az összes tesztelt *Armillaria* törzs növekedését (28. ábra). A *Ch. interruptum* és a *D. finlandicus* fajok viszonylag alacsonyabb, ám még így is jelentős, 84%-os átlagos növekedésgátló hatást mutattak (28. B ábra). Kiemelkedő antagonizmust figyeltünk meg a *Ch. globosum* törzsek és a *Ch. rectangulare* esetében, melyek átlagos gátló hatása 95%-os volt, a *Ch. cochliodes* átlagos gátló hatása pedig 92%-os volt. A tesztelt *Armillaria* törzsek közül a haploid *A. ostoyae* SZMC 23093 (28. C) törzs állt ellen a legjobban a biokontoll mikroorganizmusoknak.



28. ábra. A *Chaetomium* és *Dichotomopilus* törzsek *in vitro* növekedésgátlása *Armillaria* törzsekkel szemben. **A.** A *Chaetomium* fajok és a *D. finlandicus* *Armillaria*-val szembeni gátlása %-ban kifejezve. (Átlag \pm SD, n=3). **B.** A *Chaetomium* fajok és a *D. finlandicus* gátlási értékeinek eloszlása. **C.** Az *Armillaria* törzsek gátlási értékeinek eloszlása.

A szakirodalomban az egyik *Chaetomium* faj *Armillaria* elleni antagonizmusát Raziq és Fox (2004) vizsgálták, és megállapították, hogy a *Chaetomium olivaceum in vitro* hatástalan volt az *A. mellea* ellen, de *in vivo* körülmények között hatékonynak bizonyult. Raziq és Fox (2005) különböző gombafajok kombinációinak hatékonyságát tanulmányozták az *A. mellea* által okozott gyökérrothadás ellen cserepes földieper növényekkel végzett kísérletek során. Két *T. harzianum* izolátumot (Th1 és Th2) külön-külön és más gombákkal kombinálva vizsgálták, beleértve a *Dactylium dendroides*, *T. viride*, *T. hamatum* és *Ch. olivaceum* fajokat. Az eredmények azt mutatták, hogy az *A. mellea*-val fertőzött, kezeletlen növények mind elpusztultak a kísérlet végére, míg a gombakezelések kombinációinak alkalmazása esetén a növények 50%-a túlélte. Legjobb tudomásunk szerint elsőként vizsgáltuk a *Ch. cochliodes*, *Ch. globosum*, *Ch. interruptum*, *Ch. rectangulare* és a *D. finlandicus* fajok *in vitro* antagonizmusát az *A. cepistipes*, *A. gallica*, *A. mellea* és *A. ostoyae* ellen, és elsőként bizonyítottuk növekedésgátló hatásukat *Armillaria* fajokkal szemben.

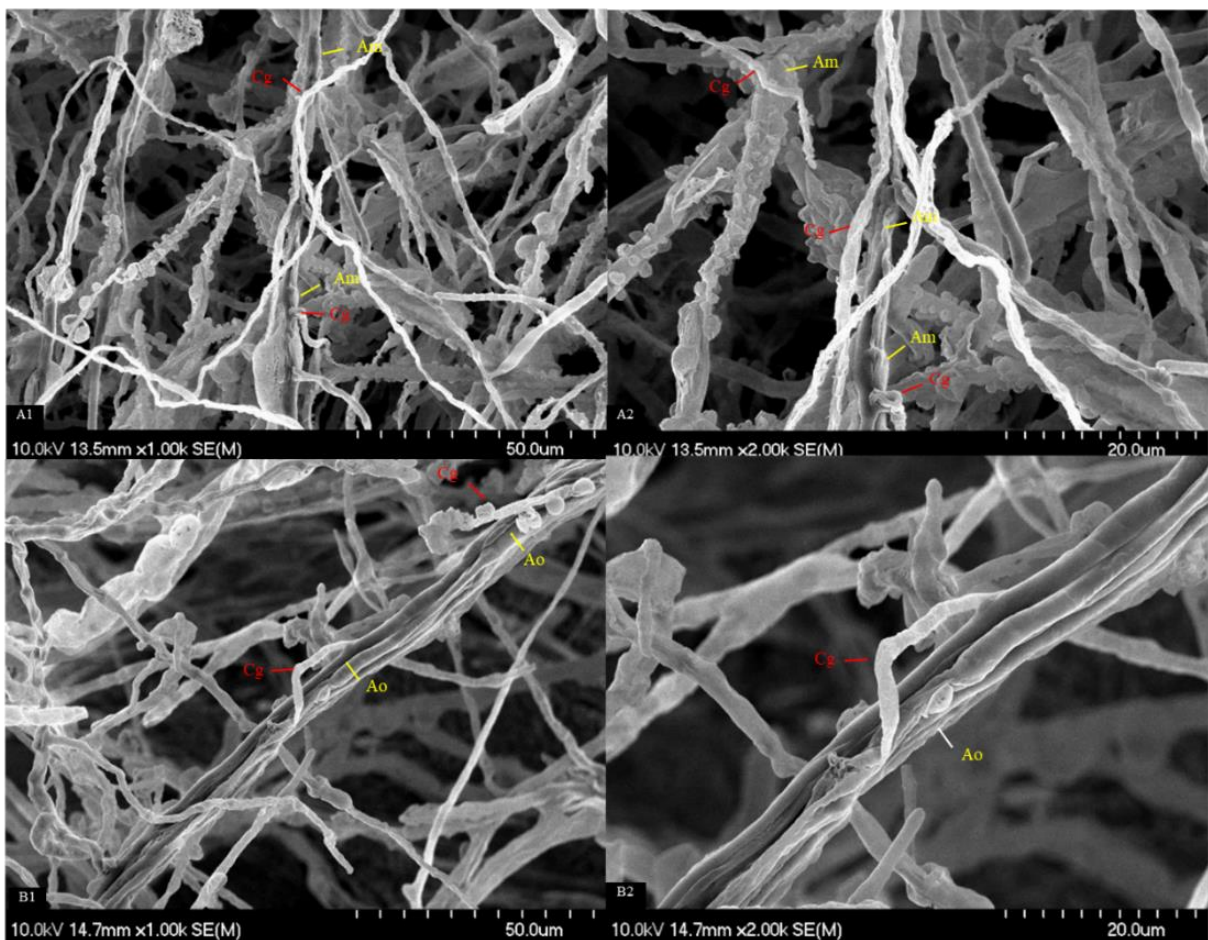
A *Chaetomium* fajok számos növénypatogén gomba elleni antagonizmusáról tudósítottak a szakirodalomban. A *Ch. globosum* gátolta a *Venturia inaequalis* (alma varasodásának kórokozója), a *Drechslera sorokiniana* (búza foltbetegség kórokozója), a *Fusarium udum*, a *Cochliobolus sativus* (búza foltbetegség) és a *Pyrenophora tritici-repentis* növekedését (Madbouly és Abdel-Wareth, 2020). Egyéb *Chaetomium* fajok gátolták a *Macrophoma kuwatsukai*, a *Rhizoctonia solani*, a *Sclerotium rolfsii*, a *Fusarium* sp., a *Helminthosporium* sp., a *Pythium ultimum*, az *Alternaria raphani*, az *Alt. brassicicola*, a *Phytophthora* sp., és a *Pyricularia oryzae* fajokat (Aswini 2019; Aggarwal 2015). Beszámoltak továbbá a *Ch. cochliodes* *Fus. oxysporum f. sp. lycopersici*, *Phy. parasitica* (Phonkerd és mtsai., 2008), *Phy. infestans*, *Fus. culmorum*, *Fus. solani* és *Bot. cinerea* (Linkies és mtsai., 2020) elleni antagonizmusáról. A szakirodalomban nem találtunk a *Ch. interruptum*, *Ch. rectangulare*, valamint a *Dichotomopilus* fajok fitopatogénekkal szembeni antagonizmusára vonatkozó vizsgálatokat.

6.8.2. A konfrontációs antagonizmus vizsgálata SEM-mel

A biokontroll gombák több módon gátolhatják a fitopatogén gombák növekedését. Ezek lehetnek a helyért és tápanyagokért folytatott kompetíció, a mikoparazitizmus, az antibiózis - vagy ezek különféle kombinációi (Linkies és mtsai., 2020; Abdel-Azeem 2020). Az elektronmikroszkópos vizsgálatokkal betekintést nyerhetünk az antagonizmus mechanizmusába. A SEM-es ábrákon az *Armillaria* és a *Chaetomium* hifák könnyen megkülönböztethetőek, mivel az *Armillaria* hifái sokkal nagyobbak, mint a *Chaetomium* hifái.

A SEM vizsgálatok során a biokontroll-jelölt *Ch. globosum* és *D. finlandicus* törzsekkel kezelt *Armillaria* hifákon erőteljes károsodás volt megfigyelhető (29. és 30. ábrák). A biokontroll gombatörzsek képesek voltak kolonizálni az *Armillaria*-t; a károsodott hifákon megtelepedő *Ch. globosum* és *D. finlandicus* gombahifákat figyeltünk meg minden esetben, ami direkt antagonizmusra, valamint mikoparazitizmusra utal.

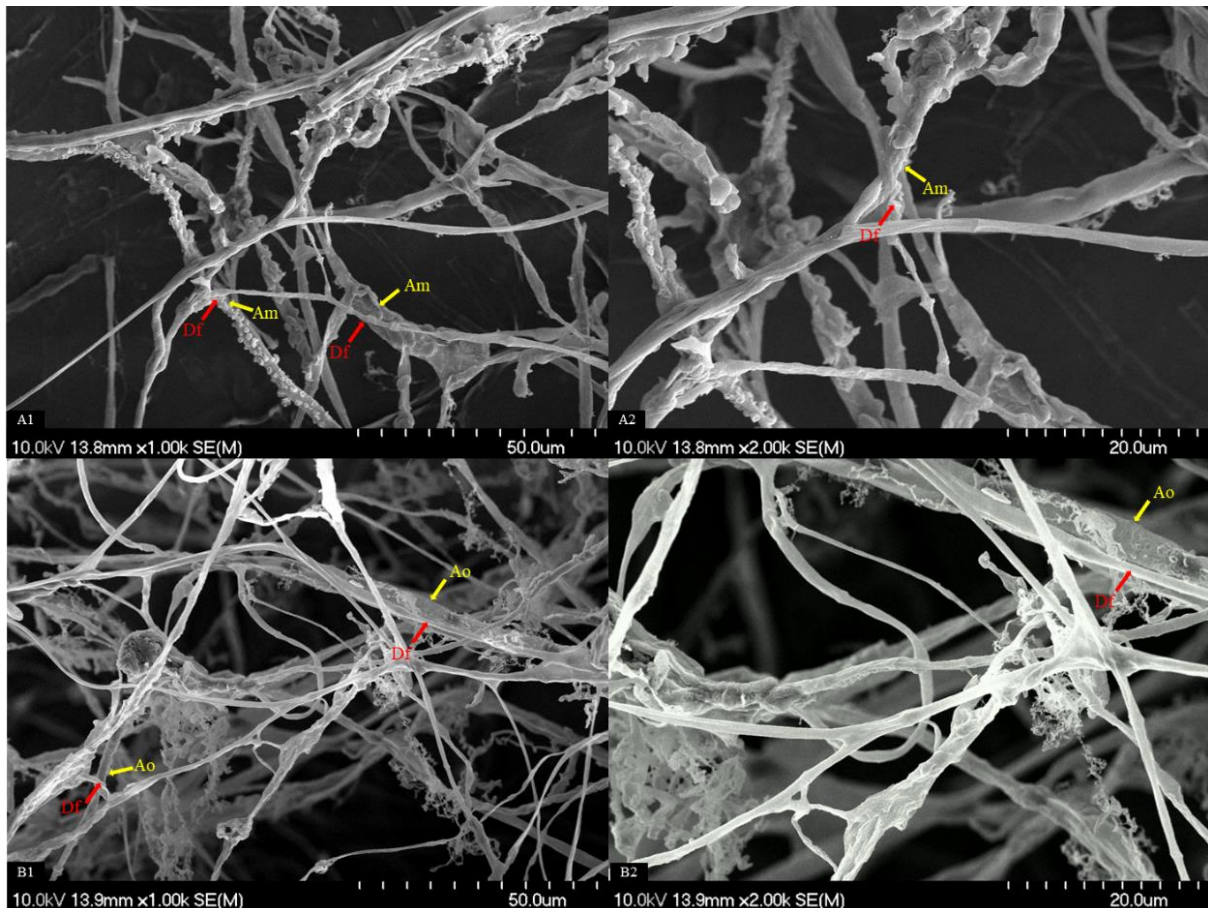
A *Ch. globosum* *A. mellea* (29. A1 és A2. ábra) és *A. ostoyae* (29. B1 és B2. ábra) törzsekkel szembeni antagonizmusának vizsgálata során készült SEM-felvételeken megfigyelhető, ahogy a *Ch. globosum* hifái rátekerednek az *Armillaria* törzsek hifáira, behatolnak a hifákba és láthatóak az ellaposodott *Armillaria* hifák.



29. ábra. A *Ch. globosum* SZMC 24464 (Cg) és az *Armillaria* törzsek *in vitro* antagonizmusának SEM-felvétele. **A1, A2.** *Ch. globosum* SZMC 24464 és *A. mellea* SZMC 24131 (Am) kölcsönhatása. **B1, B2.** *Ch. globosum* SZMC 24464 és *A. ostoyae* SZMC 23083 (Ao) kölcsönhatása.

A *D. finlandicus* és az *A. mellea* (30. A1 és A2 ábra) valamint az *A. ostoyae* (30. B1 és B2 ábra) törzsekkel szembeni kölcsönhatása során készült SEM felvételeken megfigyelhető volt, hogy a *D. finlandicus* hifái szorosan kapcsolódnak az *Armillaria* hifákhoz, majd behatolnak azokba, melyet piros nyilakkal jelöltünk a felvételeken.

A vizsgálatok során a *D. finlandicus* jelenlétében az *Armillaria* hifák jelentős szerkezeti károsodást szenvedtek. A hifák deformálódása, ellaposodása és egyéb morfológiai változások egyértelműen megfigyelhetők voltak. Az ilyen típusú károsodások arra utalnak, hogy a *D. finlandicus* közvetlen fizikai és biokémiai mechanizmusok révén fejti ki antagonistát hatását.



31. ábra. A *D. finlandicus* SZMC 26529 (Df) és az *Armillaria* törzsek *in vitro* antagonizmusának SEM-felvételei. **A1, A2.** *D. finlandicus* SZMC 26529 és *A. mellea* SZMC 24131 (Am) kölcsönhatása. **B1, B2.** *D. finlandicus* SZMC 26529 és *A. ostoyae* SZMC 23083 (Ao) kölcsönhatása.

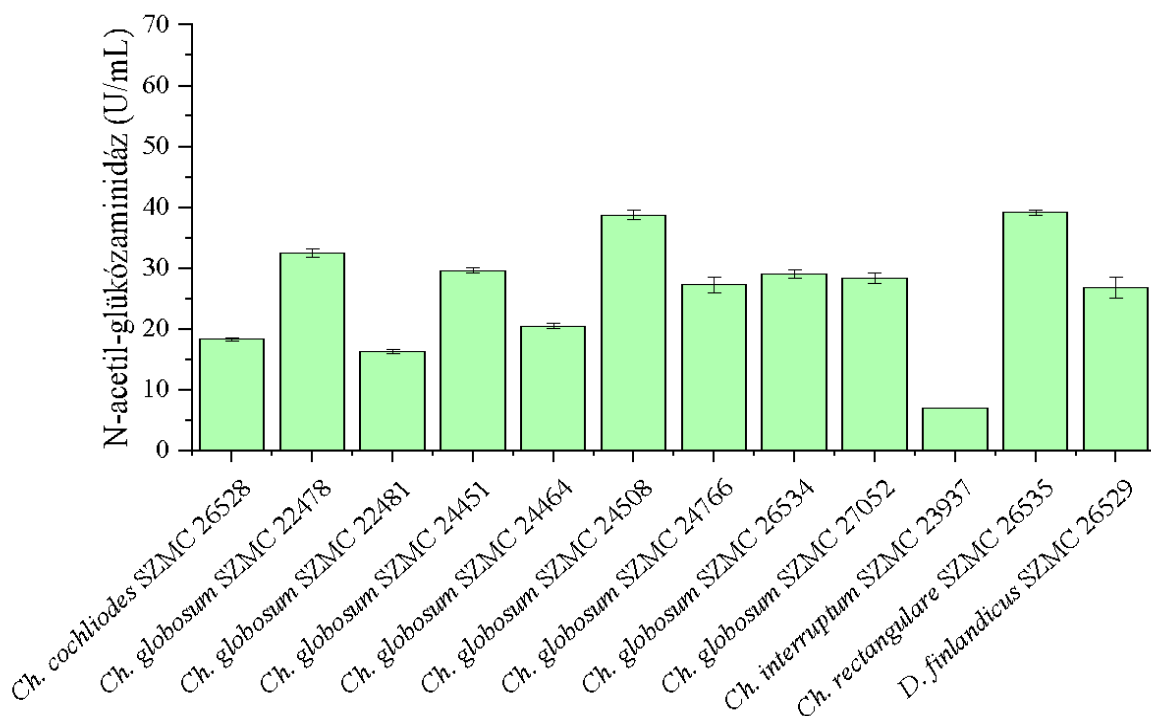
A *Chaetomium* és *Dichotomopilus* fajok *Armillaria* fajokkal szembeni antagonizmusát legjobb tudomásunk szerint eddig még nem vizsgálták elektronmikroszkóppal. Néhány tanulmány azonban SEM segítségével vizsgálta a különböző *Chaetomium* fajok és fitopatogén gombák közötti kölcsönhatásokat. Daroodi és munkatársai (2021) a *Rhizoctonia solani* nekrotróf fitopatogén gomba elleni biológiai védekezési lehetőségeket vizsgálták a *Ch. jodhpurensis* endofita gomba alkalmazásával. A SEM-felvételek a *R. solani* hifák felületén súlyos torzulásokat és a micélium lízisét mutatták ki. Cao és munkatársai (2009) a *Stachybotrys elegans*, *Ch. aboriginum* és *Cylindrocarpon* sp. fajok hatását vizsgálták a *Pythium aphanidermatum* és a *R. solani* növénypatogén gombák növekedésére és hifáinak morfológiájára. A hifák felületi szerkezetének részletes vizsgálatát SEM-el végezték, és a

felvételeken megfigyelték a hifák felületén bekövetkező morfológiai változásokat: a *Ch. aboriginum* rátekeredését és a behatolási struktúrákat, valamint a fitopatogén gombák hifáinak károsodását. Darshan és munkatársai (2020) a *Ch. globosum Bipolaris sorokiniana* elleni antagonista mechanizmusait vizsgálták pásztázó elektronmikroszkóppal, megfigyeléseik alapján a *B. sorokiniana* konídiumai abnormalis duzzanatokat és deformitást mutattak.

6.9. A potenciális biokontroll gombatörzsek antagonizmusának molekulaszintű vizsgálata

6.9.1. A gombatörzsek kitináz enzim termelésére való képessége

A *Chaetomium* sp. törzsek N-acetil- β -D-glükózaminidáz aktivitása 6-39 U/mL között alakult (31. ábra). A legalacsonyabb aktivitást a *Ch. interruptum* SZMC 23937 törzs mutatta, a legmagasabbat pedig a *Ch. globosum* törzsek, de nem elhanyagolható a *Ch. rectangulare* SZMC 26535 és a *D. finlandicus* SZMC 26529 törzsek N-acetil- β -D-glükózaminidáz enzimaktivitása sem. Azok a törzsek, amelyek kevesebb mennyiségben termelték az N-acetil- β -D-glükózaminidáz enzimet, kevésbé gátolták a vizsgált *Armillaria* fajok növekedését. Ilyen például a *Ch. interruptum*, amelynek esetében a legalacsonyabb értéket kaptuk mind az *Armillaria*-k növekedésgátlásában, mind pedig az N-acetil- β -D-glükózaminidáz enzim termelésében.



31. ábra. A *Chaetomium* és *Dichotomopilus* törzsek N-acetil- β -D-glükózaminidáz termelése. (Átlag \pm SD, n=3).

Eredményeink arra utalnak, hogy az N-acetil- β -D-glükózaminidáz enzim jelentős szerepet játszik az *Armillaria* fajok elleni antagonistá aktivitásban. Kísérleteink során azt tapasztaltuk, hogy mind a baktériumok, mind a *Chaetomium* fajok közül azok a mikroorganizmusok bizonyultak a leghatékonyabbnak az *Armillaria* növekedésének gátlásában, amelyek képesek voltak N-acetil- β -D-glükózaminidáz enzimet termelni. Ez az enzim a kitináz enzimek csoportjába tartozik, amelyek hidrolizálják a kitint, mely az *Armillaria* sejtfalának fő komponense. Az enzim jelenléte és aktivitása hozzájárulhat a patogén gombák sejtfalának degradációjához, ezáltal gátolva azok növekedését és szaporodását.

Elshahawy és Khattab (2022) egy kitináztermelő *Ch. globosum* izolátumot vizsgáltak, amely 91%-ban gátolta a *Cephalosporium maydis* micéliumnövekedését. A kórokozó micéliumnövekedését és konídiumcsírázását a *Ch. globosum* sejtmentes kivonatai is gátolták. Ez az endofita gomba nemcsak közvetlenül antagonizálta a kórokozót, hanem közvetetten is csökkentette a késői hervadás előfordulását azáltal, hogy rezisztenciamechanizmusokat indukált a kukoricánövényekben. Az antioxidáns enzimek (pl. peroxidáz és polifenoloxidáz), a kitináz, a klorofilltartalom, az összes fenol és a flavonoidok indukciója felelős volt a kórokozó elleni közvetett hatásáért. Ezek az eredmények megerősítik, hogy a kitináz enzimek fontos szerepet játszanak a növényi kórokozók elleni védekezésben.

6.10. A potenciális biokontroll gombatörzsek növénynövekedést serkentő vegyületek termelésére való képessége

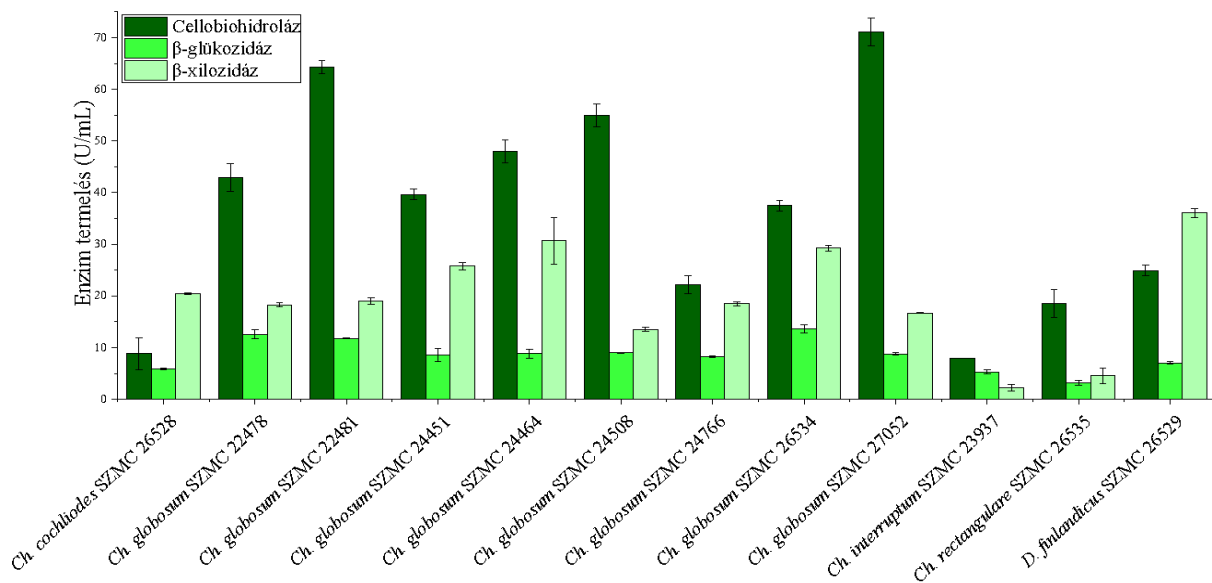
6.10.1. A gombatörzsek strukturális szénhidrátbontó képessége

A *Chaetomium* nemzetséghez tartozó fajok cellulózbontó gombákként is ismertek, a baktériumok enzimaktivitásánál egy nagyságrenddel nagyobb mennyiségű strukturális szénhidrátbontó enzimet termelnek. A vizsgált *Chaetomium* és *Dichotomopilus* törzsek különböző enzimaktivitásokat mutattak (32. ábra).

A *Ch. globosum* törzsek termelték a legnagyobb mennyiségben a vizsgált strukturális szénhidrátbontó extracelluláris enzimeket (cellobiohidroláz: 20,64 – 71,67 U/mL; β -glükozidáz: 7,57 – 18,99 U/mL; β -xilozidáz 8,54 – 41,57 U/mL). Két *Ch. globosum* törzs (SZMC 27052 és SZMC 26539) mutatta a legmagasabb cellobiohidroláz enzimaktivitást ($71,13 \pm 2,7$ és $71,67 \pm 2,3$ U/mL). A legkisebb mennyiségű poliszacharid-lebontó extracelluláris enzimet a *Ch. interruptum* SZMC 23937 termelte (cellobiohidroláz: 7,88 U/mL; β -glükozidáz: 5,29 U/mL; β -xilozidáz: 2,28 U/mL), valamint két *Ch. cochliodes* törzs (SZMC 22473 és SZMC 26528 – cellobiohidroláz: 11,31 és 8,83 U/mL; β -glükozidáz: 6,98 U/mL; β -xilozidáz:

20,88 és 20,43 U/mL). A *Ch. rectangulare* SZMC 26535 törzs szintén kis mennyiségű poliszacharidbontó enzimet állított elő (cellobiohidroláz: 18,57 U/mL; β -glükózidáz: 3,24 U/mL; β -xilozidáz: 4,58 U/mL).

Az általunk újonnan leírt *D. finlandicus* faj törzsei (SZMC 26527 és SZMC 26529) alacsonyabb cellobiohidroláz enzimtermelést mutattak (32,14 és 24,91 U/mL), mint a *Ch. globosum* törzsek, de a többi enzim esetében hasonló enzimaktivitásokat kaptunk (β -glükózidáz: 21,27 és 7,06 U/mL; β -xilozidáz: 29,01 és 36,08 U/mL; β -1,4-N-acetilglükózaminidáz: 18,29 és 26,89 U/mL) (33. ábra).



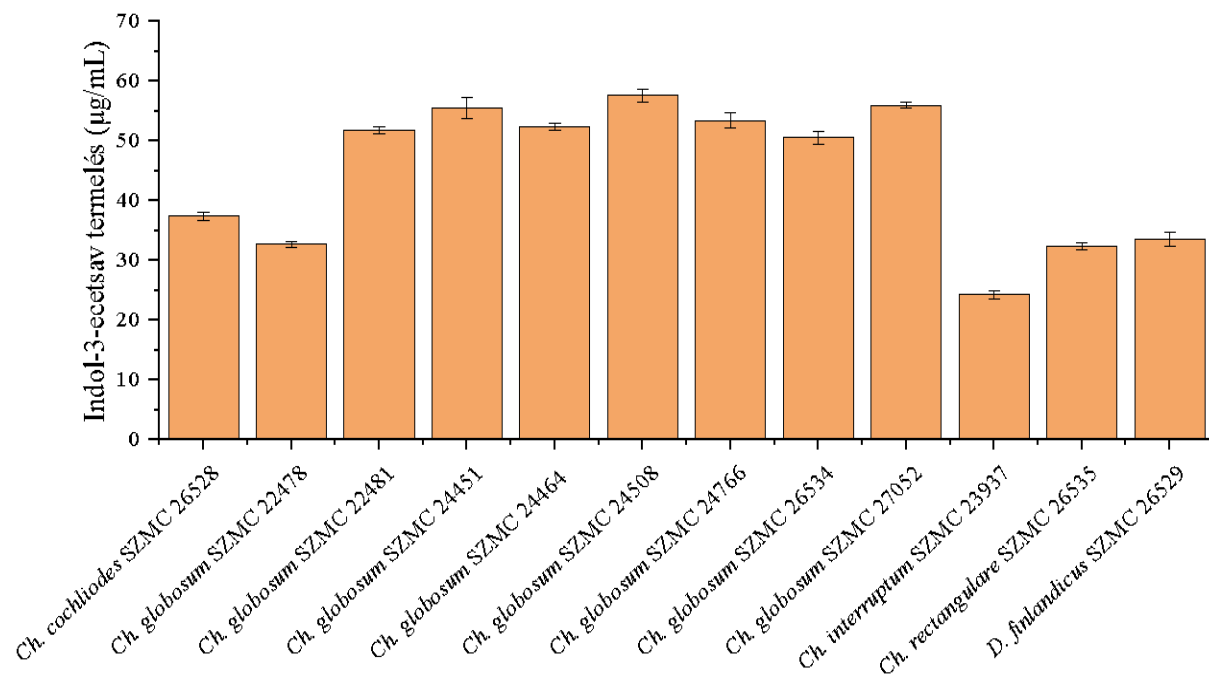
32. ábra. A vizsgált *Chaetomium*- és *Chaetomium*-szerű törzsek extracelluláris szénhidrátbontó enzimaktivitásai. (Átlag \pm SD, n=3).

A *Chaetomium*- és *Chaetomium*-szerű törzsek enzimaktivitásai változatosnak bizonyultak, de sem az izoláció helyével, sem a növekedési szubsztrátummal nem találtunk összefüggést. Ezek az eredmények összhangban vannak Abdel-Azeem és munkatársai (2016) megállapításával, amely szerint az enzimtermelés izolátumfüggő. A szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy az enzimtermelésnek nincs kimutatható összefüggése az ökológiával.

Ahmed és munkatársai (2008) *Ch. globosum* által termelt xilanáz enzim gombaellenes hatását vizsgálták, melynek során kimutatták, hogy a tisztított xilanáz és a szűrt tenyészet gátolja a *Bipolaris sorokiniana* növekedését. A tisztított xilanáz 100 μ g/mL-es koncentrációban 100%-ban gátolta a *B. sorokiniana* konídiumcsírázását, míg a tenyészet szűrlete 67,5%-ban tudta gátolni a csírázást.

6.10.2. A gombatörzsek indolecetsav-termelése

Mindegyik vizsgált *Chaetomium* és *Dichotomopilus* törzs termelt IES-t, melynek mennyisége 24-57 $\mu\text{g/mL}$ között változott (33. ábra). A legnagyobb IES-mennyiséget a *Ch. globosum* törzsek (SZMC 22481: $51,785 \pm 0,6 \mu\text{g/mL}$; SZMC 24451: $55,55 \pm 1,7 \mu\text{g/mL}$; SZMC 24464: $52,402 \pm 0,57 \mu\text{g/mL}$; SZMC 24508: $57,663 \pm 1,13 \mu\text{g/mL}$; SZMC 24766: $53,47 \pm 1,28 \mu\text{g/mL}$; SZMC 26534: $50,58 \pm 1,08 \mu\text{g/mL}$; SZMC 27052: $56,23 \pm 0,42 \mu\text{g/mL}$), a legkisebb mennyiséget pedig a *Ch. interruptum* SZMC 23937 ($24,32 \pm 0,7 \mu\text{g/mL}$) termelte. A többi *Chaetomium* és a *Dichotomopilus* törzs (*Ch. cochliodes* SZMC 26528: $37,44 \pm 0,72 \mu\text{g/mL}$; *Ch. rectangulare* SZMC 26535: $32,4 \pm 0,58 \mu\text{g/mL}$; *D. finlandicus* SZMC 26529: $33,62 \pm 1,15 \mu\text{g/mL}$) IES-termelési értékei alacsonyabbak voltak, de még így is jelentős mennyiségeket értek el.

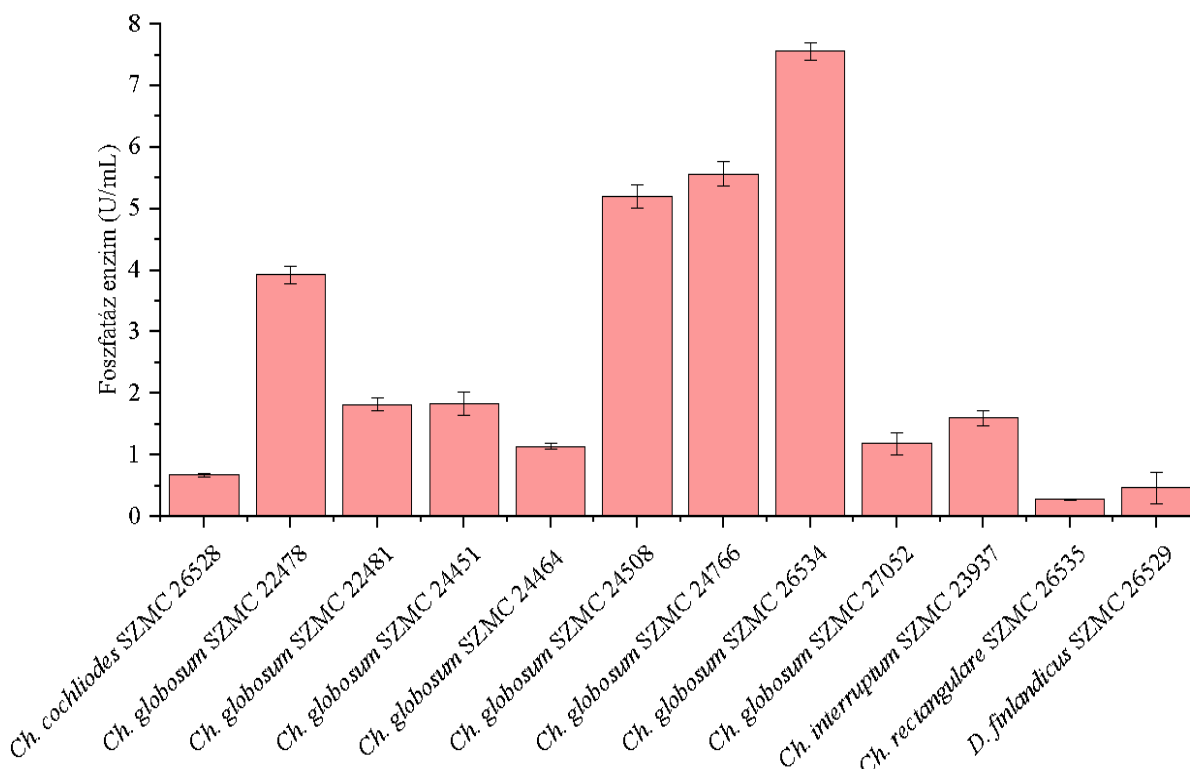


33. ábra. A vizsgált *Chaetomium* és *Dichotomopilus* törzsek indolecetsav-termelése. (Átlag \pm SD, n=3).

Khan és munkatársai (2012) a *Ch. globosum* törzsek vizsgálata során kimutatták, hogy a gombák IES-termelése elősegítette a paprika növények gyökérnövekedését és biomasszájának növekedését. Tian és munkatársai (2022) egy IES-termelő *Ch. globosum* törzs uborka növekedésére gyakorolt hatását vizsgálták. Eredményeik alapján a *Ch. globosum* törzs a szimbiotikus rendszer gazdanövényt történő kialakítása során aktiválta a gazdanövény védekező jelátviteli útvonalait és a fitohormon jelútvonalaikat, hogy elősegítse a növények növekedését és fokozza a gazdanövények biotikus és abiotikus stresszel szembeni rezisztenciáját.

6.10.3. A gombatörzsek foszformobilizáló képessége

Az összes vizsgált *Chaetomium* és *Dichotomopilus* törzs termelt foszfatáz enzimet (34. ábra). Kimagasló mennyiségű foszfatáz enzimet a *Ch. globosum* faj törzsei termeltek (SZMC 22478: $3,92 \pm 0,14$ U/mL, SZMC 24508: $5,2 \pm 0,19$ U/mL, SZMC 24766: $5,56 \pm 0,2$ U/mL, SZMC 26534: $7,55 \pm 0,14$ U/mL).



34. ábra. A vizsgált *Chaetomium* és *Dichotomopilus* törzsek foszfatáz enzimaktivitásai. (Átlag \pm SD, n=3).

A mikroorganizmusok által termelt foszfatáz enzimek hozzájárulhatnak a növények növekedéséhez. Tarafdar és Gharu (2006) egy foszformobilizálásra képes *Ch. globosum*-al oltottak be búzát és gyöngyölest. Az oltás a növényi biomassza, a gyökérhossz, a növényi foszforkoncentráció, a mag- és szalmatermés, valamint a mag foszfortartalmának jelentős javulását eredményezte. Az eredmények azt sugallják, hogy a *Ch. globosum* olyan foszfatázokat és fitázokat termel, amelyek mobilizálják a foszfort és fokozzák a búza és gyöngyöles termését. Vaghasia és munkatársai (2017) a *Ch. globosum* foszfatáz enzimei által előállított biofoszfor ricinusmagok terméshozamára gyakorolt hatását vizsgálták. A tanulmány során összehasonlították a biofoszfor és a műtrágya hatását, és azt tapasztalták, hogy a biofoszforral kezelt ricinusmagok esetében jelentős terméshozamnövekedés volt megfigyelhető a műtrágyával kezelt magokhoz képest (Vaghasia és mtsai., 2017).

6.11. A baktériumok és gombák biokontroll-tulajdonságainak összehasonlítása

Vizsgálataink eredményei alapján kiderül, hogy a *Bacillus*, *Paenibacillus* és a *Pseudomonas* baktériumfajok egyes törzsei, valamint a *Chaetomium* és *Dichotomopilus* gombafajok alkalmazhatók lehetnek az *Armillaria* elleni biológiai védekezésre (6. táblázat). Magas ($\geq 75\%$) antagonista aktivitást figyeltünk meg a baktériumtörzsek közül a *B. amyloliquefaciens* SZMC 24437, a *B. subtilis* SZMC 24183, 24200, 24439, 24440, a *Paenibacillus* sp. SZMC 24202, a *Pseudomonas* sp. SZMC 24425, *Ps. fluorescens* SZMC 24419 és *Ps. mandelii* SZMC 26958 esetében, amikor az *Armillaria*-t egy hetet előneveltük. Abban az esetben, amikor az *Armillaria*-t és a baktériumtörzset egyszerre oltottuk le, a *B. subtilis* SZMC 24183, SZMC 24439, a *Paenibacillus* sp. SZMC 24202 és a *Ps. fluorescens* SZMC 24419 teljesen (100%) gátolták az *Armillaria*-k növekedését. A *Chaetomium*-ok közül az összes vizsgált faj (*Ch. cochliodes*, *Ch. globosum*, *Ch. interruptum*, *Ch. rectangulare*) magas ($\geq 85\%$) *Armillaria* növekedésgátlást eredményezett, és egyes törzsei teljesen benőtték, azaz 100%-ban gátolták az egyhetes *Armillaria* törzsek telepeit. Az általunk leírt *D. finlandicus* is átlagosan 85%-ban gátolta az összes vizsgált *Armillaria* növekedését.

A baktériumok közvetlenül antibiózissal, mikofágiával, sejtfalbontó enzimek termelésével és a gyökérzóna kolonizálásával gátolják a növénypatogének elszaporodását a növények környezetében, közvetett módon pedig a növények növekedésének támogatásával: hormontermeléssel, tápanyagmobilizálással, és a növények immunrendszerének indukálásával, így védve a növényeket a patogének támadásával szemben. A baktériumok tanulmányozása során megfigyeltük, hogy a kitináz enzimtermelés fontos szerepet játszik az *Armillaria* elleni antagonizmusban, mivel azon baktériumok esetében, amelyek jobban gátolták az *Armillaria* növekedését, magasabb kitináz enzimaktivitást mértünk. Egy másik fontos mechanizmus a másodlagos antifungális metabolitok révén megvalósuló antibiózis. A *Bacillus* fajok esetében a bacillomicin, fengicin, mikoszubtilin és szurfaktin valószínűsíthetően nagymértékben hozzájárul a hatékony antagonizmushoz. Az elektronmikroszkópos vizsgálatok lehetővé tették a mikroorganizmusok közötti interakciók megfigyelését. A SEM felvételeken *Ps. fluorescens* SZMC 24419, hogy az *Armillaria* elleni védekezést nagy valószínűséggel antibiózis útján, valósítják meg, mivel az *Armillaria* hifái károsodtak, de baktériumok nem voltak megfigyelhetők a hifákon, valamint előfordulhat, hogy az *Armillaria* törzsek olyan metabolitot termelnek ami miatt a nem tudnak az *Armillaria* hifáira rátelepedni. Ugyanez a jelenség *Lysinbacillus* sp. SZMC 24203 esetében is megfigyelhető volt. A *Bacillus* (*B. amyloliquefaciens* SZMC 24437, *B. subtilis* SZMC 24439) törzsek képesek voltak

kolonizálni az *Armillaria* hifáit, mely a hifák súlyos károsodását idézte elő. A gombák a baktériumokhoz hasonló módon képesek a patogének gátlására, a gombák esetében is megfigyelték a mikoparazitizmust, antibiózist és a kompetíciót. Az elektronmikroszkóp segítségével a mikoparazitizmust tudtuk megfigyelni, a felvételeken látható volt, ahogy a *Ch. globosum* és a *D. finlandicus* rátekeredett az *Armillaria* hifáira, és a felvételeken minden esetben erősen károsodott *Armillaria* hifák voltak detektálhatók.

6. táblázat: A vizsgált baktériumok és gombák antifungális és növénynövekedéstserkentő tulajdonságainak összegzése

Biokontroll mikroorganizmus	<i>Armillaria</i> gátlása (%)	Antifungális aktivitásért felelős metabolitok	Növénynövekedést serkentő metabolitok	A gátlás mechanizmusa
<i>B. amyloliquefaciens</i> SZMC 24437	86±6	kitináz, sziderofór, fengicin, szurfaktin, mikoszubtilin, bacillomicin	IES, foszfatáz, celluláz, β-glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>B. subtilis</i> SZMC 24183	86±6	kitináz, sziderofór, fengicin, szurfaktin, mikoszubtilin	IES, foszfatáz, celluláz, β-glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>B. subtilis</i> SZMC 24200	83±6	kitináz, sziderofór, fengicin, szurfaktin, mikoszubtilin, bacillomicin	IES, foszfatáz, celluláz, β-glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>B. subtilis</i> SZMC 24439	86±6	kitináz, sziderofór, fengicin, szurfaktin	IES, foszfatáz, celluláz, β-glükózidáz, xilanáz,	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>B. subtilis</i> SZMC 24440	82±7	kitináz, sziderofór, fengicin, szurfaktin, mikoszubtilin, bacillomicin	IES, foszfatáz, celluláz, β-glükózidáz, xilanáz,	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Burkholderia</i> sp. SZMC 24198	47±19	-	IES	-
<i>Lysinibacillus</i> sp. SZMC 24203	38±24	kitináz	foszfatáz, celluláz,	Indirekt antagonizmus: a növények

Biokontroll mikroorganizmus	<i>Armillaria</i> gátlása (%)	Antifungális aktivitásért felelős metabolitok	Növénynövekedést serkentő metabolitok	A gátlás mechanizmusa
			β -glükózidáz, xilanáz,	ellenállóképességének növelése
<i>Paenibacillus</i> sp. SZMC 24199	42 \pm 15	-	IES	-
<i>Paenibacillus</i> sp. SZMC 24202	81 \pm 7	kitináz	foszfátáz, celluláz, β -glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Pb. castaneae</i> SZMC 24201	39 \pm 19	kitináz	IES, foszfátáz, celluláz, β -glükózidáz, xilanáz	Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Pb. castaneae</i> SZMC 24204	51 \pm 17	-	foszfátáz	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Pseudomonas</i> sp. SZMC 24184	74 \pm 6	kitináz, sziderofór	IES, foszfátáz, celluláz, β -glükózidáz, xilanáz	Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Pseudomonas</i> sp. SZMC 24187	44 \pm 13	sziderofór	IES	Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Pseudomonas</i> sp. SZMC 24425	74 \pm 8	kitináz	IES, foszfátáz, celluláz, β -glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Ps. fluorescens</i> SZMC 24419	73 \pm 15	kitináz, sziderofór	IES, foszfátáz, celluláz, β -glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Ps. fluorescens</i> SZMC 24428	53 \pm 19	sziderofór	IES	Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Ps. koreensis</i> SZMC 24190	51 \pm 10	sziderofór	IES, foszfátáz	Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Ps. mandelii</i> SZMC 24197	68 \pm 13	kitináz, sziderofór	foszfátáz, celluláz,	Indirekt antagonizmus: a növények

Biokontroll mikroorganizmus	<i>Armillaria</i> gátlása (%)	Antifungális aktivitásért felelős metabolitok	Növénynövekedést serkentő metabolitok	A gátlás mechanizmusa
			β -glükózidáz, xilanáz	ellenállóképességének növelése
<i>Ps. mandelii</i> SZMC 24416	54 \pm 16	kitináz	IES, foszfatáz, celluláz, β -glükózidáz, xilanáz	Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Ps. mandelii</i> SZMC 24422	48 \pm 12	sziderofór	IES, xilanáz	Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Ps. mandelii</i> SZMC 24423	60 \pm 12	kitináz	IES, foszfatáz, celluláz, β -glükózidáz, xilanáz	Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Ps. mandelii</i> SZMC 26958	82 \pm 7	kitináz	IES, foszfatáz, celluláz, β -glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Ch. cochliodes</i> SZMC 26528	93 \pm 7	kitináz, ketomin, ketoviridin A, ketomugilin*	IES, foszfatáz, celluláz, β -glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Ch. globosum</i> SZMC 22478	91 \pm 12	kitináz	IES, foszfatáz, celluláz, β -glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Ch. globosum</i> SZMC 22481	95 \pm 4	kitináz	IES, foszfatáz, celluláz, β -glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Ch. globosum</i> SZMC 24451	96 \pm 6	kitináz	IES, foszfatáz, celluláz, β -glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Ch. globosum</i> SZMC 24464	96 \pm 6	kitináz	IES, foszfatáz, celluláz, β -glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények

Biokontroll mikroorganizmus	<i>Armillaria</i> gátlása (%)	Antifungális aktivitásért felelős metabolitok	Növénynövekedést serkentő metabolitok	A gátlás mechanizmusa
				ellenállóképességének növelése
<i>Ch. globosum</i> SZMC 24508	92±8	kitináz	IES, foszfatáz, celluláz, β-glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Ch. globosum</i> SZMC 24766	90±6	kitináz	IES, foszfatáz, celluláz, β-glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Ch. globosum</i> SZMC 26534	89±9	kitináz, ketoglobozin, ketoviridin A, ketoviridin C*	IES, foszfatáz, celluláz, β-glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt gátlás: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Ch. globosum</i> SZMC 27052	95±5	kitináz	IES, foszfatáz, celluláz, β-glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Ch. interruptum</i> SZMC 23937	88±8	kitináz	IES, foszfatáz, celluláz, β-glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>Ch. rectangulare</i> SZMC 26535	94±6	kitináz	IES, foszfatáz, celluláz, β-glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése
<i>D. finlandicus</i> SZMC 26529	84±9	kitináz	IES, foszfatáz, celluláz, β-glükózidáz, xilanáz	Direkt antagonizmus: parazitizmus, kompetíció, antibiózis Indirekt antagonizmus: a növények ellenállóképességének növelése

*Salo és mtsai., 2020

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Az *Armillaria* nemzetséghez tartozó gombák világszerte jelentős gyökérrothadást okoznak több mint 500 fafaj esetében, beleértve erdészeti és mezőgazdasági növényeket is. Ezek a gombák a fák gyökereit kolonizálják és elpusztítják az élő fákat, ökológiai és gazdasági károkat okozva. A kémiai védekezési módszerek, például a fungicidek korlátozott hatékonyságúak és környezeti kockázatokkal járnak, ezért a biológiai védekezési módszerek egyre nagyobb figyelmet kapnak. A biológiai védekezés során mikroorganizmusokat, például baktériumokat és gombákat alkalmaznak az *Armillaria* elleni küzdelemben. A *Bacillus*, a *Pseudomonas* és a *Chaetomium* fajok különböző mechanizmusokkal, például antibiózissal, kompetitív kolonizációval és parazitizmussal gátolják a gomba növekedését és terjedését.

Kutatásunk célja *Armillaria*, illetve potenciális biokontroll baktériumtörzsek azonosítása és vizsgálata volt a Keszthelyi-hegység és a Rosalia-hegység területéről származó talaj-, termőtest- és rizomorfaminták felhasználásával.

A vizsgált *Armillaria* és baktériumokat szelektív táptalajokon izoláltuk, majd genetikai markerek amplifikációjával és szekvenálásával azonosítottuk az izolált fajokat. A *Chaetomium* és *Chaetomium*-szerű törzseket szintén molekuláris markerekkel (*tefla*, ITS, *rpb2* és *tub2*) azonosítottuk, és filogenetikai elemzéseket végeztünk a különböző gének szekvenciáinak összehasonlításával.

Az antagonizmus-vizsgálatok során PDA táptalajon tenyésztettük az *Armillaria* törzseket, majd különböző biokontroll mikroorganizmusokkal együtt inkubáltuk őket. Az *Armillaria* telepek növekedésének gátlását mértük, és az antagonista hatásokat pásztázó elektronmikroszkóppal vizsgáltuk. A biokontroll baktérium- és gombatörzsek indol-3-ecetsav (IES) termelését spektrofotometriás módszerrel, sziderofórtermelésüket pedig krómazuroil-szulfonsav tartalmú táptalajon vizsgáltuk. Az extracelluláris enzimaktivitásokat kromogén szubsztrátok segítségével mértük. A biokontroll baktériumok növekedést serkentő hatását fenyőmagok esetében vizsgáltuk.

Mintáinkban négy *Armillaria* fajt azonosítottunk: az *A. cepistipes* és *A. ostoyae* a Rosalia-hegységből, az *A. mellea* és *A. gallica* pedig a Keszthelyi-hegységből származó mintákban fordult elő. Összesen 22 baktériumtörzset izoláltunk, amelyek közül 11 *Pseudomonas* sp., 5 *Bacillus* sp., 4 pedig *Paenibacillus* sp. volt.

A vizsgálatainkba bevont, korábban izolált *Chaetomium* törzsek között a *Ch. globosum*, *Ch. cochliodes*, *Ch. interruptum* és *Ch. rectangulare* fajok szerepeltek, valamint a filogenetikai

vizsgálatok alapján egy új fajt azonosítottunk. A *Dichotomopilus* izolátumokat további vizsgálatoknak vetettük alá: 4 lókuszt alapján filogenetikai fát készítettünk, valamint különböző táptalajon vizsgáltuk a telep morfológiát, illetve fény- és elektronmikroszkópos morfológiai vizsgálatokat végeztünk, melyek alapján bebizonyítottuk, hogy valóban egy új *Dichotomopilus* faj képviselői, melyet *Dichotomopilus finlandicus* néven írtunk le.

Az *in vitro* antagonizmus-vizsgálatok során kimutattuk, hogy a vizsgált *Bacillus* és *Pseudomonas* törzsek hatékonyan gátolják az *Armillaria* fajok növekedését. Különösen a *B. amyloliquefaciens* és *B. subtilis* törzsek mutattak jelentős antagonista hatást. A *Chaetomium* törzsek szintén erős növekedésgátló hatást mutattak, különösen a *Ch. globosum* és *Ch. rectangulare* fajok képviselői. A pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálatok kimutatták, hogy a *Bacillus* és a *Chaetomium* törzsek közvetlenül kolonizálták az *Armillaria* hifákat, ami a gombahifák elvékonyodásához és töredezéséhez vezetett, míg a *Pseudomonas* törzsek metabolitok termelésével gátolták a gomba növekedését. Az N-acetil- β -D-glükózaminidáz enzimet termelő baktériumok és gombák szintén jelentős növekedésgátló hatást fejtettek ki az *Armillaria* fajokra, az enzimtermelés és a gátló hatás között mind a baktériumok, mind a gombák esetében korrelációt találtunk.

Megállapítottuk, hogy a *B. amyloliquefaciens* SZMC 24437 és a *B. subtilis* SZMC 24440 bacillomicin (*BamC*), mikoszubtilin (*mycA*), fengicin (*fenB*) és szurfaktin (*sfp*) termeléséért felelős géneket egyaránt tartalmazták. Ezek a lipopeptidek fontos bioaktív tulajdonságokkal, pl. antifungális és antibakteriális hatásokkal rendelkeznek.

A potenciális biokontroll mikroorganizmusok hatékonyságát a sziderofórtermelés, az extracelluláris enzimaktivitás és az IES-termelés tekintetében is vizsgáltuk. A *Bacillus* és *Pseudomonas* törzsek jelentős sziderofórtermelő képességgel rendelkeznek, ami elősegítheti a vas felvételét a növények gyökérszónájában, ezáltal gátolva a patogén gombák szaporodását.

A különböző baktérium- és gombatörzsek cellulózbontó enzimeket termeltek, amik szintén fontos szerepet játszanak a biokontrollban és a növények tápanyagellátásában. Különösen a *Bacillus* törzsek (pl. a *B. amyloliquefaciens* SZMC 24437 és a *B. subtilis* SZMC 24439) mutattak magas cellobiohidroláz és β -glükozidáz enzimaktivitást. A *Ps. fluorescens* SZMC 24419 törzset kiemelkedő β -xilozidáz termelés jellemzi. A *Chaetomium* fajok közül a *Ch. globosum* törzsek mutatták a legnagyobb enzimaktivitást, különösen a cellobiohidroláz és β -glükozidáz esetében.

Az indolecetsav-termelését is vizsgáltuk, mivel ez a növényi hormon kulcsszerepet játszik a növénynövekedés szabályozásában. A *Pseudomonas* törzsek közül a *Pseudomonas* sp. SZMC 24425 és a *Ps. fluorescens* SZMC 24428 kiemelkedő IES-termelést mutattak. A *Chaetomium* törzsek közül a *Ch. globosum* termelt a legtöbb IES-t. A foszfatáz enzimaktivitás vizsgálata során a *Bacillus* törzsek, különösen a *B. amyloliquefaciens* SZMC 24437 és a *B. subtilis* SZMC 24439 mutatták a legnagyobb aktivitást. A *Chaetomium* törzsek közül a *Ch. globosum* szintén jelentős foszfatáztermeléssel rendelkezett.

Eredményeink alapján a *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* és *Ps. fluorescens* baktériumtörzsek a legígéretesebbek az *Armillaria* elleni biológiai védekezésre, mivel jelentős antagonista aktivitást és növénynövekedést serkentő tulajdonságokat mutattak. A gombák közül a *Ch. globosum* törzsek voltak a leghatékonyabbak az *Armillaria* elleni védekezésben, különböző biokontroll mechanizmusokat alkalmazva.

Összefoglalva, a biokontroll mikroorganizmusok hatékony alternatívát nyújthatnak a kémiai növényvédő szerek helyett, hozzájárulva a fenntartható mezőgazdasági gyakorlatokhoz és a környezeti terhelés csökkentéséhez. A jövőbeli kutatások célja a mikroorganizmusok hatékonyságának további vizsgálata különböző növényi rendszerekben és környezeti feltételek mellett, valamint az alkalmazási technológiák fejlesztése a biológiai védekezési stratégiák optimalizálása érdekében.

8. SUMMARY

Certain members of the fungal genus *Armillaria* cause significant root rot in over 500 tree species worldwide, including forest trees and agricultural plants. These fungi colonize the roots of trees and can kill living trees, resulting in ecological and economic damage. Chemical control methods, such as fungicides, have limited effectiveness and pose environmental risks, hence biocontrol methods are gaining increased attention. Biocontrol uses microorganisms such as bacteria and fungi to attack *Armillaria*. *Bacillus*, *Pseudomonas*, and *Chaetomium* species inhibit the growth and spread of the fungi through various mechanisms, including antibiosis, competitive colonization, and parasitism.

Our research aimed to identify and investigate *Armillaria* strains and potential biocontrol microorganisms from soil, fruiting body, and rhizomorph samples collected from the Keszthely Mountains and the Rosalia Mountains, as well as from other sources.

For the isolation and identification of *Armillaria* strains and potential biocontrol bacteria we used samples from healthy and infected forests. The fungal tissues were placed on selective media and identified by amplifying and sequencing the genetic marker *tefla*. *Bacillus* and *Pseudomonas* strains were isolated on selective media and identified using the genetic markers *gyrA* and *rpoB*. *Chaetomium* and *Chaetomium*-like strains were identified using the molecular markers *tefla*, ITS, *rpb2*, and *tub2*, and phylogenetic analyses were conducted by comparing the sequences of different genes.

In antagonism assays, *Armillaria* strains were cultured on PDA media and incubated with various biocontrol microorganisms. The inhibition of *Armillaria* colony growth was measured, and antagonistic effects were also examined using scanning electron microscopy. The indole-3-acetic acid (IAA) production of potential biocontrol bacteria and fungi was assessed spectrophotometrically, while siderophore production was analyzed on chrome azurol-S agar. Extracellular enzyme activities were measured using chromogenic substrates. The growth-promoting effects of biocontrol bacteria were also evaluated on pine seeds. Seeds were sterilized, treated with bacterial suspensions, incubated, and the length of seedlings was measured.

We identified four *Armillaria* species in the examined samples: *A. cepistipes* and *A. ostoyae* from the Rosalia Mountains, as well as *A. mellea* and *A. gallica* from the Keszthely Mountains. We isolated 22 bacterial strains, including 11 *Pseudomonas* sp., 5 *Bacillus* sp., and 4 *Paenibacillus* sp. The previously isolated *Chaetomium* strains involved in the study were

Ch. globosum, *Ch. cochliodes*, *Ch. interruptum*, and *Ch. rectangulare*, along with strains of a new *Dichotomopilus* species, which we described as *Dichotomopilus finlandicus*.

In vitro antagonism tests demonstrated that the *Bacillus* and *Pseudomonas* strains effectively inhibited the growth of *Armillaria* species, with *B. amyloliquefaciens* and *B. subtilis* showing significant antagonistic effects. *Chaetomium* strains also exhibited strong growth inhibition, particularly *Ch. globosum* and *Ch. rectangulare*. Scanning electron microscopy revealed that *Bacillus* and *Chaetomium* strains directly colonized *Armillaria* hyphae, leading to thinning and fragmentation of the fungal hyphae, while *Pseudomonas* strains inhibited fungal growth through metabolite production.

Bacteria and fungi producing N-acetyl- β -D-glucosaminidase enzyme also showed significant growth inhibitory effects on *Armillaria* species. We found a correlation between enzyme production and inhibitory effect in both bacterial and fungal strains. The analysis of lipopeptide-producing genes in *Bacillus* strains revealed that *B. amyloliquefaciens* SZMC 24437 and *B. subtilis* SZMC 24440 contained all four examined lipopeptide genes (bacillomycin - *BamC*, mycosubtilin - *mycA*, fengycin - *fenB*, surfactin - *sfp*). These lipopeptides possess important bioactive properties, such as antifungal and antibacterial effects.

The efficacy of biocontrol microorganisms was also assessed through siderophore production, extracellular enzyme activity, and IAA production. *Bacillus* and *Pseudomonas* strains exhibited significant siderophore production, enhancing iron uptake in the plant root zone and thereby inhibiting the proliferation of pathogenic fungi. Different bacterial and fungal strains produced cellulolytic enzymes crucial for biocontrol and plant nutrient uptake. Notably, *Bacillus* strains like *B. amyloliquefaciens* SZMC 24437 and *B. subtilis* SZMC 24439 exhibited high cellobiohydrolase and β -glucosidase activities. *Ps. fluorescens* SZMC 24419 showed high β -xylosidase production. Among *Chaetomium* species, *Ch. globosum* strains demonstrated the highest enzymatic activity, particularly for cellobiohydrolase and β -glucosidase. IAA production, which plays a key role in plant growth regulation, was also investigated. *Pseudomonas* strains, particularly *Pseudomonas* sp. SZMC 24425 and *Ps. fluorescens* SZMC 24428, showed high IAA production. *Ch. globosum* strains produced the most IAA among *Chaetomium* species. The phosphatase enzyme activity analysis indicated that *Bacillus* strains, especially *B. amyloliquefaciens* SZMC 24437 and *B. subtilis* SZMC 24439, had the highest activity. *Ch. globosum* strains also demonstrated significant phosphatase production.

Our results indicate that bacterial strains of *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, and *Ps. fluorescens* are the most promising for *Armillaria* biocontrol, displaying significant antagonistic activity and plant growth-promoting properties. Among fungi, *Ch. globosum* strains were the most effective against *Armillaria*, employing various biocontrol mechanisms.

In conclusion, biocontrol microorganisms provide an effective alternative to chemical pesticides, contributing to sustainable agricultural practices and reducing environmental impact. Future research should focus on further examining the efficacy of these microorganisms in different plant systems and environmental conditions and developing application technologies to optimize biological control strategies.

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Legnagyobb köszönettel és hálával témavezetőimnek, Dr. Kredics Lászlónak és Prof. Dr. Sipos Györgynek tartozom, akik szakértelmükkel irányítják a munkámat.

Köszönettel tartozom Prof. Dr. Vágvölgyi Csabának a SZTE TTIK Mikrobiológiai Tanszék vezetőjének, és Prof. Dr. Papp Tamásnak a SZTE TTIK Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék vezetőjének, hogy lehetővé tették dolgozatom elkészítését.

Köszönöm a laboratóriumban nyújtott nélkülözhetetlen segítségét, Dr. Allaga Henriettának, Balázs Dóra Krisztinának, Bordé Ádámnak, Büchner Ritának, Dr. Hatvani Lórántnak, Dr. Marik Tamásnak, Dr. Chetna Tyaginak, Dr. Nagy Viktor Dávidnak, Rozsnyói Ákosnak, Terna Gergőnek, Varga Andrásnak, Vörös Mónikának és Dr. Anuar Zhumakayevnek, hogy bizalommal fordulhattam hozzájuk, amikor segítségre volt szükségem. Külön köszönettel tartozom Dr. Bencsik-Bóka Bettinának és Dr. Liqiong Chennek akikkel együtt dolgoztunk az *Armillaria* pályázaton.

Köszönetet szeretnék mondani Dr. Kocsubé Sándornak és Dr. Szűcs Attilának, akik munkájukkal és szakértelmükkel segítették dolgozatom elkészítését.

Továbbá, szeretném megköszönni Dr. Kedves Alfonznak és Prof. Dr. Kónya Zoltánnak az elektronmikroszkópos felvételek készítésében nyújtott segítségüket

Köszönettel tartozom Dr. Magyar Donátnak, Dr. Maria A. Anderssonnak, Dr. Johanna M. Salonak, Dr. Raimo Mikkola, Dr. Heidi Salonenek, rendelkezésemre bocsátották a *Chaetomium* gombatorzseket.

Továbbá szeretnék köszönetet mondani az SZTE TTIK Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszék összes dolgozójának, hogy munkájukkal és szakértelmükkel segítették dolgozatom elkészítését.

Hálásan köszönöm házibírálóimnak Dr. Lange-Enyedi Nóra Tündének és Dr. Szebenyi Csillának, hogy munkájukkal hozzájárultak a dolgozatom végleges formájának kialakításához.

Végül, de nem utolsó sorban szeretnék mégegyszer hálás köszönetet mondani férjemnek Dr. Kedves Alfonznak és kislányomnak, Kedves Adélnak, akik mindvégig mellettem álltak.

A disszertáció "Az erdészeti kártevő *Armillaria* nemzetség patológiája és a biológiai védekezés lehetőségei" (GINOP-2.3.2-15-2016-00052) és a Mikrobiológiai készítmények kifejlesztése a hatékony, környezetbarát diótermesztés céljaira (82022-1.2.6-TÉT-IPARI-TR-2022-00009 projekt) pályázatok támogatásával készült.

10. IRODALOMJEGYZÉK

- Abdel-Azeem, A. M., Gherbawy, Y. A., Sabry, A. M. (2016). Enzyme profiles and genotyping of *Chaetomium globosum* isolates from various substrates. *Plant Biosystems*, 150(3), 420–428. <https://doi.org/10.1080/11263504.2014.984791>
- Abhilash, P. C., Dubey, R. K., Tripathi, V., Gupta, V. K., Singh, H. B. (2016). Plant growth-promoting microorganisms for environmental sustainability. *Trends in Biotechnology*, 34(11), 847–850. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.05.005>
- Adaskaveg, J. E., Förster, H., Wade, L., Thompson, D. F., Connell, J. H. (1999). Efficacy of sodium tetrathiocarbonate and propiconazole in managing Armillaria root rot of almond on peach rootstock. *Plant Disease*, 83(3), 240–246. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.3.240>
- Aggarwal, R. (2015). *Chaetomium globosum*: a potential biocontrol agent and its mechanism of action. *Indian Phytopathology*, 68(1), 8–24.
- Aguin, O., Mansilla, J. P., Sainz, M. J. (2006). *In vitro* selection of an effective fungicide against and control of white root rot of grapevine in the field. *Pest Management Science*, 228, 223–228. <https://doi.org/10.1002/ps.1149>
- Ahammed, S. K., Aggarwal, R., Kapoor, H. C. (2008). Production, partial purification and characterization of extracellular xylanase from *Chaetomium globosum*. *J. Plant Biochemistry and Biotechnology*, 17(1), 95–98. <https://doi.org/10.1007/BF03263268>
- Ahemad, M., Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*, 26(1), 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>
- Ahmad, F., Ahmad, I., Khan, M. S. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research*, 163(2), 173–181. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.04.001>
- Ahmad, M., Adil, Z., Hussain, A., Mumtaz, M. Z., Nafees, M., Ahmad, I., Jamil, M. (2019). Potential of phosphate solubilizing *Bacillus* strains for improving growth and nutrient uptake in mungbean and maize crops. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 56(2), 283–289. <https://doi.org/10.21162/pakjas/19.7455>
- Ait Kaki, A., Kacem Chaouche, N., Dehimat, L., Milet, A., Youcef-Ali, M., Ongena, M., Thonart, P. (2013). Biocontrol and plant growth promotion characterization of *Bacillus* species isolated from *Calendula officinalis* rhizosphere. *Indian Journal of Microbiology*, 53(4), 447–452. <https://doi.org/10.1007/s12088-013-0395-y>
- Akocak, P. B., Churey, J. J., Worobo, R. W. (2015). Antagonistic effect of chitinolytic *Pseudomonas* and *Bacillus* on growth of fungal hyphae and spores of aflatoxigenic *Aspergillus flavus*. *Food Bioscience*, 10, 48–58. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2015.01.005>
- Ali, B., Sabri, A. N., Ljung, K., Hasnain, S. (2009). Quantification of indole-3-acetic acid from plant associated *Bacillus* spp. and their phyto-stimulatory effect on *Vigna radiata* (L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(3), 519–526. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9918-9>
- Ali, S. S., Vidhale, N. N. (2013). Bacterial siderophore and their application : A review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2(12), 303–312.
- Ambrosini, A., Passaglia, L. M. P. (2017). Plant growth-promoting bacteria (PGPB): isolation and screening of PGP activities. *Current Protocols in Plant Biology*, 2(3), 190–209. <https://doi.org/10.1002/pb.20054>
- Andersen, A. A. (1958). New sampler for the collection, sizing, and enumeration of viable airborne

- particles. *Journal of Bacteriology*, 76(904), 471–484. <https://journals.asm.org/journal/jb>
- Asgari, B., Zare, R. (2011). The genus *Chaetomium* in Iran, a phylogenetic study including six new species. *Mycologia*, 103(4), 863–882. <https://doi.org/10.3852/10-349>
- Asghar, W., Kataoka, R. (2022). Different green manures (*Vicia villosa* and *Brassica juncea*) construct different fungal structures, including plant-growth-promoting effects, after incorporation into the soil. *Agronomy*, 12(2), 323. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020323>
- Aswini C. (2019). A review on *Chaetomium globosum* is versatile weapons for various plant pathogens. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(2), 946–949.
- Awad, N. E., Kassem, H. A., Hamed, M. A., El-Feky, A. M., Elnaggar, M. A. A. (2018). Isolation and characterization of the bioactive metabolites from the soil derived fungus *Trichoderma viride*. *Mycology*, 9(1), 70–80. <https://doi.org/10.1080/21501203.2017.1423126>
- Bajpai, P. (2017). Bioconversion of lignocellulosic residues into single-cell protein. In P. Bajpai (Szerk.), *Single Cell Protein Production from Lignocellulosic Biomass* (o. 17–19). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-5873-8_3
- Barnawal, D., Bharti, N., Pandey, S. S., Pandey, A., Chanotiya, C. S., Kalra, A. (2017). Plant growth-promoting rhizobacteria enhance wheat salt and drought stress tolerance by altering endogenous phytohormone levels and TaCTR1/TaDREB2 expression. *Physiologia Plantarum*, 161(4), 502–514. <https://doi.org/10.1111/ppl.12614>
- Baron, N. C., Rigobelo, E. C. (2022). Endophytic fungi: a tool for plant growth promotion and sustainable agriculture. *Mycology*, 13(1), 39–55. <https://doi.org/10.1080/21501203.2021.1945699>
- Basurto-Cadena, M. G. L., Vázquez-Arista, M., García-Jiménez, J., Salcedo-Hernández, R., Bideshi, D. K., Barboza-Corona, J. E. (2012). Isolation of a new Mexican strain of *Bacillus subtilis* with antifungal and antibacterial activities. *The Scientific World Journal*, 2012(1), 384978. [10.1100/2012/384978](https://doi.org/10.1100/2012/384978)
- Baumgartner, K. (2004). Root collar excavation for postinfection control of *Armillaria* root disease of grapevine. *Plant Disease*, 88(11), 1235–1240. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.11.1235>
- Baumgartner, K., Coetzee, M. P. A., Hoffmeister, D. (2011). Secrets of the subterranean pathosystem of *Armillaria*. *Molecular Plant Pathology*, 12(6), 515–534. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00693.x>
- Baumgartner, K., Rizzo, D. M. (2001). Distribution of *Armillaria* species in California. *Mycologia*, 93(5), 821–830. <https://doi.org/10.1080/00275514.2001.12063217>
- Belimov, A. A., Dodd, I. C., Safronova, V. I., Dumova, V. A., Shaposhnikov, A. I., Ladatko, A. G., Davies, W. J. (2014). Abscisic acid metabolizing rhizobacteria decrease ABA concentrations in planta and alter plant growth. *Plant Physiology and Biochemistry*, 74, 84–91. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.10.032>
- Bencsik-Bóka Bettina (2019) Egy biokontroll képességekkel rendelkező *Bacillus subtilis* törzs ökofiziológiai és molekuláris jellemzése. PhD-értekezés, Szegedi Tudományegyetem
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., Passaglia, L. M. P. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*, 35(4), 1044–1051. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572012000600020>
- Berg, G. (2009). Plant – microbe interactions promoting plant growth and health : perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84, 11–18. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2092-7>
- Berini, F., Katz, C., Gruzdev, N., Casartelli, M., Tettamanti, G., Marinelli, F. (2018). Microbial and

- viral chitinases: Attractive biopesticides for integrated pest management. *Biotechnology Advances*, 36(3), 818–838. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.01.002>
- Bhattacharyya, P. N., Jha, D. K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1327–1350. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>
- Bianco, C., Senatore, B., Arbucci, S., Pieraccini, G., Defez, R. (2014). Modulation of endogenous indole-3-acetic acid biosynthesis in bacteroids within *Medicago sativa* nodules. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(14), 4286–4293. <https://doi.org/10.1128/AEM.00597-14>
- Bouizgarne, B. (2013). Bacteria for plant growth promotion and disease management. In D. K. Maheshwari (Szerk.), *Bacteria in Agrobiology: Disease Management* (o. 15–47). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-33639-3>
- Büchner, R., Vörös, M., Allaga, H., Varga, A., Bartal, A., Szekeres, A., Varga, S., Bajzát, J., Bakos-Barczy, N., Misz, A, Csutorás, C., Hatvani, L., Vágvölgyi, C., Kredics, L. (2022) Selection and characterization of a *Bacillus* strain for potential application in industrial production of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Agronomy*. 2022; 12(2):467. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020467>
- Cao, R., Liu, X., Gao, K., Mendgen, K., Kang, Z., Gao, J., Dai, Y., Wang, X. (2009). Mycoparasitism of endophytic fungi isolated from reed on soilborne phytopathogenic fungi and production of cell wall-degrading enzymes *in vitro*. *Current Microbiology*, 59(6), 584–592. <https://doi.org/10.1007/s00284-009-9477-9>
- Castagnoli, E., Salo, J., Toivonen, M. S., Marik, T., Mikkola, R., Kredics, L., Vicente-Carrillo, A., Nagy, S., Andersson, M. T., Andersson, M. A., Kurnitski, J., Salonen, H. (2018). An evaluation of boar spermatozoa as a biosensor for the detection of sublethal and lethal toxicity. *Toxins*, 10(11), 1–15. <https://doi.org/10.3390/toxins10110463>
- Cawoy, H., Bettiol, W., Fickers, P., Ongena, M. (2011). *Bacillus*-based biological control of plant diseases. In S. Margarita (Szerk.), *Pesticides in the Modern World – Pesticides Use and Management* (Köt. 1849, Szám 2011). InTech.
- Champramary, S. (2024). Exploring the molecular machinery of *Armillaria ostoyae*: Advancing insights into pathogenicity, bioremediation and self-defences. PhD Thesis. University of Szeged.
- Chandrasekaran, R., Revathi, K., Nisha, S., Kirubakaran, S. A., Sathish-Narayanan, S., Senthil-Nathan, S. (2012). Physiological effect of chitinase purified from *Bacillus subtilis* against the tobacco cutworm *Spodoptera litura* Fab. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 104(1), 65–71. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.07.002>
- Chen, C., Tong, Q., Zhu, H., Tan, D., Zhang, J., Xue, Y., Yao, G., Luo, Z., Wang, J., Wang, Y., Zhang, Y. (2016). Nine new cytochalasan alkaloids from *Chaetomium globosum* TW1-1 (Ascomycota, Sordariales). *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep18711>
- Chen, J., Zhang, W., Guo, Q., Yu, W., Zhang, Y., He, B. (2020). Bioactivities and future perspectives of chaetoglobosins. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2020(2). <https://doi.org/10.1155/2020/8574084>
- Chen, L., Bóka, B., Kedves, O., Nagy, V. D. V.D., Szűcs, A., Champramary, S., Roszik, R., Patocska, Z., Münsterkötter, M., Huynh, T., Indic, B., Vágvölgyi, C., Sipos, G., Kredics, L. (2019). Towards the biological control of devastating forest pathogens from the genus *Armillaria*. *Forests*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/f10111013>
- Chowdhury, S. P., Hartmann, A., Gao, X. W., Borriss, R. (2015). Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 - A review. *Frontiers in Microbiology*, 6, 780.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00780>

- Coetzee, M. P. A., Wingfield, B. D., Wingfield, M. J. (2018). *Armillaria* root-rot pathogens: Species boundaries and global distribution. *Pathogens*, 7(4), 1–18. <https://doi.org/10.3390/pathogens7040083>
- Cohen, A. C., Bottini, R., Pontin, M., Berli, F. J., Moreno, D., Boccanlandro, H., Travaglia, C. N., Piccoli, P. N. (2015). *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels. *Physiologia Plantarum*, 153(1), 79–90. <https://doi.org/10.1111/ppl.12221>
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., Barka, E. A., Cle, C. (2005). Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(9), 4951–4959. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005>
- Conrado, R., Gomes, T. C., Roque, G. S. C., De Souza, A. O. (2022). Overview of bioactive fungal secondary metabolites: cytotoxic and antimicrobial compounds. *Antibiotics*, 11, 1604. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111604>
- Cruickshank, M. G., Morrison, D. J., Punja, Z. K. (1997). Incidence of *Armillaria* species in precommercial thinning stumps and spread of *Armillaria ostoyae* to adjacent douglas-fir trees. *Canadian Journal of Forest Research*, 27(4), 481–490. <https://doi.org/10.1139/x96-185>
- Curá, J. A., Franz, D. R., Filosofía, J. E., Balestrasse, K. B., Burgueño, L. E. (2017). Inoculation with *Azospirillum* sp. and *Herbaspirillum* sp. bacteria increases the tolerance of maize to drought stress. *Microorganisms*, 5, 41. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5030041>
- Daroodi, Z., Taheri, P., Tarighi, S. (2021). Direct antagonistic activity and tomato resistance induction of the endophytic fungus *Acrophialophora jodhpurensis* against *Rhizoctonia solani*. *Biological Control*, 160(104696). <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104696>
- Darriba, D., Posada, D., Kozlov, A. M., Stamatakis, A., Morel, B., Flouri, T. (2019). ModelTest-NG: A new and scalable tool for the selection of DNA and protein evolutionary models. *Molecular Biology and Evolution*, 37(1), 291–294. <https://doi.org/10.1101/612903>
- Darshan, K., Aggarwal, R., Bashyal, B. M., Singh, J., Shanmugam, V., Gurjar, M. S., Solanke, A. U. (2020). Transcriptome profiling provides insights into potential antagonistic mechanisms involved in *Chaetomium globosum* against *Bipolaris sorokiniana*. *Frontiers in Microbiology*, 11(578115). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.578115>
- Darwish, A. M. G., Abdel-Azeem, A. M. (2020). *Chaetomium* enzymes and their applications. In A. M. Abdel-Azeem (Szerk.), *Recent Developments on Genus Chaetomium* (o. 241–249). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-31612-9_9
- de Vasconcellos, R. L. F., Cardoso, E. J. B. N. (2009). Rhizospheric streptomycetes as potential biocontrol agents of *Fusarium* and *Armillaria* pine rot and as PGPR for *Pinus taeda*. *BioControl*, 54(6), 807–816. <https://doi.org/10.1007/s10526-009-96-9>
- De Vleeschauwer, D., Höfte, M. (2009). Rhizobacteria-induced systemic resistance. *Advances in Botanical Research*, 51(C), 223–281. [https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(09\)51006-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(09)51006-3)
- DeLong, R. L., Lewis, K. J., Simard, S. W., Gibson, S. (2002). Fluorescent pseudomonad population sizes baited from soils under pure birch, pure Douglas-fir, and mixed forest stands and their antagonism toward *Armillaria ostoyae* in vitro. *Canadian Journal of Forest Research*, 32(12), 2146–2159. <https://doi.org/10.1139/x02-141>
- Dettman, J. R., van der Kamp, B. J. (2001). The population structure of *Armillaria ostoyae* in the southern interior of British Columbia. *Canadian Journal of Botany*, 79(May), 612–620.

<https://doi.org/10.1139/cjb-79-5-600>

- Deveau, A., Bonito, G., Uehling, J., Paoletti, M., Becker, M., Bindschedler, S., Wick, L. Y. (2018). Bacterial–fungal interactions: ecology, mechanisms and challenges. *FEMS microbiology reviews*, 42(3), 335–352. [10.1093/femsre/fuy008](https://doi.org/10.1093/femsre/fuy008)
- Devi, R., Kaur, T., Kour, D., Rana, K. L., Yadav, A., Yadav, A. N. (2020). Beneficial fungal communities from different habitats and their roles in plant growth promotion and soil health. *Microbial Biosystems*, 5(1), 21–24. <https://doi.org/10.21608/MB.2020.32802.1016>
- Dey, R., Pal, K. K., Bhatt, D. M., Chauhan, S. M. (2004). Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbiological Research*, 159(4), 371–394. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2004.08.004>
- Dimkić, I., Berić, T., Stević, T., Pavlović, S., Šavikin, K., Fira, D., Stanković, S. (2015). Additive and synergistic effects of *Bacillus* spp. isolates and essential oils on the control of phytopathogenic and saprophytic fungi from medicinal plants and marigold seeds. *Biological Control*, 87, 6–13. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.04.011>
- Dimkić, I., Janakiev, T., Petrović, M., Degrassi, G., Fira, D. (2022). Plant-associated *Bacillus* and *Pseudomonas* antimicrobial activities in plant disease suppression via biological control mechanisms - A review. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 117, 101754. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2021.101754>
- Duffy, B., Schouten, A., Raaijmakers, J. M. (2003). Pathogen self-defense : Mechanisms to counteract microbial antagonism. *Annual Review of Microbiology*, 41, 501–538. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.41.052002.095606>
- Dumas, M. T. (1992). Inhibition of *Armillaria* by bacteria isolated from soils of the Boreal Mixedwood Forest of Ontario. *European Journal of Forest Pathology*, 22(1), 11–18. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1992.tb01331.x>
- Egamberdieva, D., Wirth, S. J., Alqarawi, A. A., Abd-Allah, E. F., Hashem, A. (2017). Phytohormones and beneficial microbes: Essential components for plants to balance stress and fitness. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2104. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02104>
- El Arbi, A., Rochex, A., Chataigné, G., Béchet, M., Lecouturier, D., Arnauld, S., Gharsallah, N., Jacques, P. (2015). The Tunisian oasis ecosystem is a source of antagonistic *Bacillus* spp. producing diverse antifungal lipopeptides. *Research in Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2015.09.003>
- Elshahawy, I. E., Khattab, A. E. N. A. (2022). Endophyte *Chaetomium globosum* improves the growth of maize plants and induces their resistance to late wilt disease. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 129(5), 1125–1144. <https://doi.org/10.1007/s41348-022-00626-3>
- Elsharkawy, M. M., Shimizu, M., Takahashi, H., Hyakumachi, M. (2012). Induction of systemic resistance against cucumber mosaic virus by *Penicillium simplicissimum* GP17-2 in arabidopsis and tobacco. *Plant Pathology*, 61(5), 964–976. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02573.x>
- Essghaier, B., Hedi, A., Hajlaoui, M. R., Boudabous, A., Najla, S.-Z. (2012). In vivo and in vitro evaluation of antifungal activities from a halotolerant *Bacillus subtilis* strain J9. *African Journal of Microbiology Research*, 6(19), 4073–4083. <https://doi.org/10.5897/ajmr11.403>
- Etesami, H., Ryong, B., Glick, B. R. (2023). Biocontrol of plant diseases by *Bacillus* spp. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 126, 102048. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.102048>
- Fan, B., Blom, J., Klenk, H-P., Borriss, R. (2017). *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus velezensis*, and *Bacillus siamensis* Form an “Operational Group *B. amyloliquefaciens*” within the *B. subtilis* Species Complex. *Frontiers in Microbiology*, 8(22), [10.3389/fmicb.2017.00022](https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00022)

- Farias, P. C., Carvalho, R. C. De, M.L., R. F., Azevedo, L. C. B. (2018). Consortium of five fungal isolates conditioning root growth and arbuscular mycorrhiza in soybean, corn, and sugarcane. *Anais da Academia Brasileira de Ciências (Annals of the Brazilian Academy of Sciences)*, 90(4), 3649–3660. <http://doi.org/10.1590/0001-3765201820180161>
- Filip, G. M., Roth, L. F. (1977). Stump injections with soil fumigants to eradicate *Armillariella mellea* from young-growth ponderosa pine killed by root rot. *Canadian Journal of Forest Research*, 7(2), 226–231. <https://doi.org/10.1139/x77-032>
- Fox, R. T. V. (2003). Managing *Armillaria* root rot. *Food, Agriculture and Environment*, 1(1), 95–100. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2001.01187.x>
- Gajera, H., Domadiya, R., Patel, S., Kapopara, M., Golakiya, B. (2013). Molecular mechanism of *Trichoderma* as bio-control agents against phytopathogen system-a review. *Current Research in Microbiology and Biotechnology*, 1(4), 133–142.
- Ghasemi, S., Ahmadian, G., Jelodar, N. B., Rahimian, H., Ghandili, S., Dehestani, A., Shariati, P. (2010). Antifungal chitinases from *Bacillus pumilus* SG2: preliminary report. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(8), 1437–1443. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0318-6>
- Ghosh, S. K., Banerjee, S., Sengupta, C. (2017). Bioassay, characterization and estimation of siderophores from some important antagonistic fungi. *Journal of Biopesticides*, 10(2), 105–112. <https://doi.org/10.57182/jbiopestic.10.2.105-112>
- Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012, 963401. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>
- Glick, B. R., Bashan, Y. (1997). Genetic manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of phytopathogens. *Biotechnology Advances*, 15(2), 353–378. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(97\)00004-9](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(97)00004-9)
- Gohet, E., Canh, T. Van, Louanchi, M., Despreaux, D. (1991). New developments in chemical control of white root disease of *Hevea brasiliensis* in Africa. *Crop Protection*, 10(3), 234–238. [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(91\)90049-W](https://doi.org/10.1016/0261-2194(91)90049-W)
- Gond, S. K., Bergen, M. S., Torres, M. S., White Jr, J. F. (2015). Endophytic *Bacillus* spp. produce antifungal lipopeptides and induce host defence gene expression in maize. *Microbiological Research*, 172, 79–87. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2014.11.004>
- Gordon, S. A., Weber, R. P. (1951). Colorimetric estimation of indoleacetic acid. *Plant Physiology*, 26(1), 192–195. <https://doi.org/10.1104/pp.26.1.192>
- Gu, Q., Yang, Y., Yuan, Q., Shi, G., Wu, L., Lou, Z., Huo, R., Wu, H., Borriss, R., Gao, X. (2017). Bacillomycin D produced by *Bacillus amyloliquefaciens* is involved in the antagonistic interaction with the plant-pathogenic fungus *Fusarium graminearum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(19), 1–17. <https://doi.org/10.1128/AEM.01075-17>
- Guillaumin, J.-J., Mohammed, C., Anselmi, N., Courtecuisse, R., Gregory, S. C., Holdenrieder, O., Intini, M., Lung, B., Marxmüller, H., Morrison, D., Rishbeth, J., Termorshuizen, A., Turró, A., Van Dam, B. (1993). Geographical distribution and ecology of the *Armillaria* species in western Europe. *European Journal of Forest Pathology*, 23, 321–341. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1993.tb00814.x>
- Guillaumin, J. J., Pierson, J., Grassely, C. (1991). The susceptibility to *Armillaria mellea* of different *Prunus* species used as stone fruit rootstocks. *Scientia Horticulturae*, 46, 43–54.
- Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K., Singh, V. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*, 7(2), 096–102. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000188>

- Haas, D., Défago, G. (2005). Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology*, 3(4), 307–319. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1129>
- Han, S. H., Lee, S. J., Moon, J. H., Park, K. H., Yang, K. Y., Cho, B. H., Kim, K. Y., Kim, Y. W., Lee, M. C., Anderson, A. J., Kim, Y. C. (2006). GacS-dependent production of 2R, 3R-butanediol by *Pseudomonas chlororaphis* O6 is a major determinant for eliciting systemic resistance against *Erwinia carotovora* but not against *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* in tobacco. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19(8), 924–930. <https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0924>
- Haruma, T., Doyama, K., Lu, X., Arima, T., Igarashi, T., Tomiyama, S., Yamaji, K. (2022). Oosporein produced by root endophytic *Chaetomium cupreum* promotes the growth of host plant, *Miscanthus sinensis*, under aluminum stress at the appropriate concentration. *Plants*, 12, 36. <https://doi.org/10.3390/plants12010036>
- Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., Ahmed, I. (2010). Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: A review. *Annals of Microbiology*, 60(4), 579–598. <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0117-1>
- Heinzelmann, R., Dutech, C., Tsykun, T., Labbé, F., Soularue, J. P., Prospero, S. (2019). Latest advances and future perspectives in *Armillaria* research. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 41(1), 1–23. <https://doi.org/10.1080/07060661.2018.1558284>
- Höfte, M., Altier, N. (2010). Fluorescent pseudomonads as biocontrol agents for sustainable agricultural systems. *Research in Microbiology*, 161(6), 464–471. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2010.04.007>
- Hossain, M. M., Sultana, F., Kubota, M., Koyama, H., Hyakumachi, M. (2007). The plant growth-promoting fungus *Penicillium simplicissimum* GP17-2 induces resistance in *Arabidopsis thaliana* by activation of multiple defense signals. *Plant and Cell Physiology*, 48(12), 1724–1736. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcm144>
- Iqbal, N., Khan, N. A., Ferrante, A., Trivellini, A., Francini, A., Khan, M. I. R. (2017). Ethylene role in plant growth, development and senescence: interaction with other phytohormones. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1–19. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00475>
- Jha, C. K., Annapurna, K., Saraf, M. (2012). Isolation of rhizobacteria from *Jatropha curcas* and characterization of produced ACC deaminase. *Journal of Basic Microbiology*, 52, 285–295. <https://doi.org/10.1002/jobm.201100113>
- Kedves, O., Shahab, D., Champramary, S., Chen, L., Indic, B., Bóka, B., Nagy, V. D., Vágvölgyi, C., Kredics, L., Sipos, G. (2021a). Epidemiology, biotic interactions and biological control of Armillarioids in the Northern Hemisphere. *Pathogens*, 10(1), 76. <https://doi.org/10.3390/pathogens10010076>
- Kedves, O., Kocsubé, S., Bata, T., Andersson, M. A., Salo, J. M., Mikkola, R., Salonen, H., Szűcs, A., Kedves, A., Kónya, Z., Vágvölgyi, C., Magyar, D., Kredics, L. (2021b). *Chaetomium* and *Chaetomium*-like species from European indoor environments include *Dichotomopilus finlandicus* sp. nov. *Pathogens*, 10(9), 1133. <https://doi.org/10.3390/pathogens10091133>
- Khan, A. L., Halo, B. A., Elyassi, A., Ali, S., Al-Hosni, K., Hussain, J., Al-Harrasi, A., Lee, I.-J. J. (2016). Indole acetic acid and ACC deaminase from endophytic bacteria improves the growth of *Solanum lycopersicum*. *Electronic Journal of Biotechnology*, 21, 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2016.02.001>
- Khan, A. L., Shinwari, Z. K., Kim, Y. H., Waqas, M., Hamayun, M., Kamran, M., Lee, I. J. (2012). Role of endophyte *Chaetomium globosum* lk4 in growth of *Capsicum annuum* by production of gibberellins and indole acetic acid. *Pakistan Journal of Botany*, 44(5), 1601–1607.

- Khan, M. S., Zaidi, A., Ahemad, M., Oves, M., Wani, P. A. (2010). Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi – current perspective. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 56(1), 73–98. <https://doi.org/10.1080/03650340902806469>
- Kloepper, J. W., Ryu, C. M., Zhang, S. (2004). Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*, 94(11), 1259–1266. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.11.1259>
- Koch, R. A., Wilson, A. W., Séné, O., Henkel, T. W., Aime, M. C. (2017). Resolved phylogeny and biogeography of the root pathogen *Armillaria* and its gasteroid relative, Guyanagaster. *BMC Evolutionary Biology*, 17(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12862-017-0877-3>
- Koike, N., Hyakumachi, M., Kageyama, K., Tsuyumu, S., Doke, N. (2001). Induction of systemic resistance in cucumber against several diseases by plant growth-promoting fungi: Lignification and superoxide generation. *European Journal of Plant Pathology*, 107(5), 523–533. <https://doi.org/10.1023/A:1011203826805>
- Kozlov, A. M., Darrriba, D., Flouri, T., Morel, B., Stamatakis, A. (2019). RAxML-NG: A fast, scalable and user-friendly tool for maximum likelihood phylogenetic inference. *Bioinformatics*, 35(21), 4453–4455. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz305>
- Kumar, P., Dubey, R. C., Maheshwari, D. K. (2012). *Bacillus* strains isolated from rhizosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity against phytopathogens. *Microbiological Research*, 167(8), 493–499. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.05.002>
- Kwasna, H. (2001). Fungi in the rhizosphere of common oak and its stumps and their possible effect on infection by *Armillaria*. *Applied Soil Ecology*, 17(3), 215–227. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(01\)00137-8](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(01)00137-8)
- Labbé, F., Lung-Escarmant, B., Fievet, V., Soularue, J., Laurent, C., Robin, C., Dutech, C. (2017). Variation in traits associated with parasitism and saprotrophism in a fungal root-rot pathogen invading intensive pine plantations. *Fungal Ecology*, 26, 99–108. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2017.01.001>
- Laisram, N., Rahman, Z., Singh, V. P. (2023). Antagonistic activity of *Pseudomonas fluorescens* strain X1 against different fusaria and its in vivo analysis against *Fusarium udum* infected Pigeon Pea. *Current Microbiology*, 80(3), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03184-5>
- Latz, M. A. C., Jensen, B., Collinge, D. B., Jørgensen, H. J. L. (2018). Endophytic fungi as biocontrol agents: elucidating mechanisms in disease suppression. *Plant Ecology and Diversity*, 11(5–6), 555–567. <https://doi.org/10.1080/17550874.2018.1534146>
- Legrand, P., Ghahari, S., Guillaumin, J. J. (1996). Occurrence of genets of *Armillaria* spp. in four mountain forests in central France: The colonization strategy of *Armillaria ostoyae*. *New Phytologist*, 133(2), 321–332. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1996.tb01899.x>
- Leveau, J. H., Preston, G. M. (2008). Bacterial mycophagy: definition and diagnosis of a unique bacterial–fungal interaction. *New Phytologist*, 177(4), 859–876. [10.1111/j.1469-8137.2007.02325.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02325.x)
- Li, H.-Q., Li, X.-J., Wang, Y.-L., Zhang, Q., Zhang, A.-L., Gao, J.-M. (2011). Antifungal metabolites from *Chaetomium globosum*, an endophytic fungus in *Ginkgo biloba*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39(4–6), 876–879. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2011.06.019>
- Li, H., Li, H., Bai, Y., Wang, J., Nie, M., Li, B., Xiao, M. (2011). The use of *Pseudomonas fluorescens* P13 to control Sclerotinia stem rot (*Sclerotinia sclerotiorum*) of oilseed rape. *Journal of Microbiology*, 49(6), 884–889. <https://doi.org/10.1007/s12275-011-1261-4>
- Li, Q., Liao, S., Wei, J., Xing, D., Xiao, Y., Yang, Q. (2020). Isolation of *Bacillus subtilis* strain SEM-

- 2 from silkworm excrement and characterisation of its antagonistic effect against *Fusarium* spp. *Canadian Journal of Microbiology*, 66(6), 401–412. <https://doi.org/10.1139/cjm-2019-0621>
- Linkies, A., Jacob, S., Zink, P., Maschmer, M., Maier, W., Koch, E. (2020). Characterization of cultural traits and fungicidal activity of strains belonging to the fungal genus *Chaetomium*. *Journal of Applied Microbiology*, 131(1), 375–391. <https://doi.org/10.1111/jam.14946>
- Liu, X.-Y., Ruan, L., Hu, Z., Peng, D., Cao, S., Yu, Z., Liu, Y., Zheng, J., Sun, M. (2010). Genome-wide screening reveals the genetic determinants of an antibiotic insecticide in *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Biological Chemistry*, 285(50), 39191–39200. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.148387>
- Liu, Y., Štefanič, P., Miao, Y., Xue, Y., Xun, W., Zhang, N., Shen, Q., Zhang, R., Xu, Z., Mandić-Mulec, I. (2022) Housekeeping gene *gyrA*, a potential molecular marker for *Bacillus* ecology study. *AMB Express*, 12(1):133. [10.1186/s13568-022-01477-9](https://doi.org/10.1186/s13568-022-01477-9).
- Liu, Z. H., Yang, Q., Hu, S., Zhang, J. D., Ma, J. (2008). Cloning and characterization of a novel chitinase gene (*chi46*) from *Chaetomium globosum* and identification of its biological activity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80(2), 241–252. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1543-x>
- Lodewyckx, C., Vangronsveld, J., Porteous, F., Moore, E. R. B., Taghavi, S., Mezgeay, M., der Lelie, D. van. (2002). Endophytic bacteria and their potential applications. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21(6), 583–606. <https://doi.org/10.1080/0735-260291044377>
- Löytynoja, A. (2014). Phylogeny-aware alignment with PRANK. *Methods in Molecular Biology*, 1079, 155–170. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-646-7_10
- Lugtenberg, B. J. J., Caradus, J. R., Johnson, L. J. (2016). Fungal endophytes for sustainable crop production. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(12), 194. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw194>
- Lugtenberg, B., Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63(1), 541–556. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918>
- Lung-Escarmant, B., Guyon, D. (2004). Temporal and spatial dynamics of primary and secondary infection by *Armillaria ostoyae* in a *Pinus pinaster* plantation. *Phytopathology*, 94(2), 125–131. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.2.125>
- Madbouly, A. K., Abdel-Wareth, M. T. A. (2020). The use of *Chaetomium* taxa as biocontrol agents. In A. M. Abdel-Azeem (Szerk.), *Recent Developments on Genus Chaetomium* (o. 251–266). Springer Nature Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-030-31612-9_10
- Maheshwari, D. K. (2012). Bacteria in agrobiolgy: Disease management. In *Bacteria in Agrobiolgy: Disease Management*. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-33639-3>
- Maier, A., Riedlinger, J., Fiedler, H. P., Hampp, R. (2004). Actinomycetales bacteria from a spruce stand: Characterization and effects on growth of root symbiotic and plant parasitic soil fungi in dual. *Mycological Progress*, 3, 129–136. <https://doi.org/10.1007/s11557-006-0083-y>
- Maksimov, I. V., Abizgil'dina, R. R., Pusenkova, L. I. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria as alternative to chemical crop protectors from pathogens (review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 47(4), 333–345. <https://doi.org/10.1134/S0003683811040090>
- Maksimov, I. V., Singh, B. P., Cherepanova, E. A., Burkhanova, G. F., Khairullin, R. M. (2020). Prospects and applications of lipopeptide-producing bacteria for plant protection (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 56(1), 15–28. <https://doi.org/10.1134/S0003683820010135>
- Maleki, M., Mostafae, S., Mokhtarnejad, L., Farzaneh, M. (2010). Characterization of *Pseudomonas fluorescens* strain CV6 isolated from cucumber rhizosphere in Varamin as a potential biocontrol

- agent. *Australian Journal of Crop Science*, 4(9), 676–683.
- Malviya, D., Sahu, P. K., Singh, U. B., Paul, S. (2020). Lesson from ecotoxicity : revisiting the microbial lipopeptides for the management of emerging diseases for crop protection. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(4), 1434. <https://doi.org/10.3390/ijerph17041434>
- Marçais, B., Caël, O. (2006). Spatial pattern of the density of *Armillaria* epiphytic rhizomorphs on tree collar in an oak stand. *Forest Pathology*, 36(1), 32–40. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2006.00431.x>
- Mercado-Flores, Y., Cárdenas-Álvarez, I. O., Rojas-Olvera, A. V., Pérez-Camarillo, J. P., Leyva-Mir, S. G., Anducho-Reyes, M. A. (2014). Application of *Bacillus subtilis* in the biological control of the phytopathogenic fungus *Sporisorium reilianum*. *Biological Control*, 76, 36–40. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.04.011>
- Mesanza, N., Iturritxa, E., Patten, C. L. (2016). Native rhizobacteria as biocontrol agents of *Heterobasidion annosum* s.s. and *Armillaria mellea* infection of *Pinus radiata*. *Biological Control*, 101, 8–16. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.06.003>
- Meziane, H., Van Der Sluis, I., Van Loon, L. C., Höfte, M., Bakker, P. A. H. M. (2005). Determinants of *Pseudomonas putida* WCS358 involved in inducing systemic resistance in plants. *Molecular Plant Pathology*, 6(2), 177–185. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00276.x>
- Miethke, M., Marahiel, M. A. (2007). Siderophore-based iron acquisition and pathogen control. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(3), 413–451. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00012-07>
- Miransari, M., Smith, D. L. (2014). Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, 99, 110–121. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.11.005>
- Mohite, B. (2013). Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13(3), 638–649. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162013005000051>
- Morrison, D. J., Pellow, K. W. (2002). Variation in virulence among isolates of *Armillaria ostoyae*. *Forest Pathology*, 32(2), 99–107. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0329.2002.00275.x>
- Narendra Kumar, P., Swapna, T. H., Khan, M. Y., Reddy, G., Hameeda, B. (2015). Statistical optimization of antifungal iturin A production from *Bacillus amyloliquefaciens* RHNK22 using agro-industrial wastes. *Saudi Journal of Biological Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.09.014>
- Neilands, J. B. (1952). A crystalline organo-iron pigment from a rust fungus (*Ustilago sphaerogena*). *J. Am. Chem. Soc.*, 666(1946), 4864–4847. <https://doi.org/10.1021/ja01139a033>
- Nihorimber, V., Ongena, M. (2017). Isolation of plant growth-promoting *Bacillus* strains with biocontrol activity in vitro. *Merit Research Journal of Microbiology and Biological Sciences*, 5(2), 13–21.
- Nybroe, O., Sørensen, J. (2004). Production of cyclic lipopeptides by fluorescent Pseudomonads. In: Ramos, J.L. (eds) *Pseudomonas*. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9088-4_5
- Okeke, B. C., Lu, J. (2011). Characterization of a defined cellulolytic and xylanolytic bacterial consortium for bioprocessing of cellulose and hemicelluloses. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 163(7), 869–881. <https://doi.org/10.1007/s12010-010-9091-0>
- Ongena, M., Jacques, P. (2008). *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends in Microbiology*, 16(3), 115–125. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.12.009>

- Pandey, K. N. (2015). Elucidation of abiotic stress signaling in plants. In G. K. Pandey (Szerk.), *Natriuretic Peptides: Physiology, Molecular Biology, and Clinical Implications*. Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2211-6>
- Patil, S., C Bheemaraddi, M., T. Shivannavar, C., M Gaddad, S. (2014). Biocontrol activity of siderophore producing *Bacillus subtilis* CTS-G24 against wilt and dry root rot causing fungi in chickpea. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 7(9), 63–68. <https://doi.org/10.9790/2380-07916368>
- Pawsey, R. G., Rahman, M. A. (1976). Field trials with armillatox against *Armillariella mellea*. *Pans*, 22(1), 49–56. <https://doi.org/10.1080/09670877609411455>
- Pellegrini, A., Corneo, P. E., Camin, F., Ziller, L., Tosi, S., Pertot, I. (2013). Isotope ratio mass spectrometry identifies soil microbial biocontrol agents having trophic relations with the plant pathogen *Armillaria mellea*. *Applied Soil Ecology*, 64, 142–151. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.12.005>
- Pérez-Montaño, F., Alías-Villegas, C., Bellogín, R. A., del Cerro, P., Espuny, M. R., Jiménez-Guerrero, I., López-Baena, F. J., Ollero, F. J., Cubo, T. (2014). Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: From microorganism capacities to crop production. *Microbiological Research*, 169(5–6), 325–336. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.011>
- Phonkerd, N., Kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K., Soyong, K., Prabpai, S., Kongsearee, P. (2008). Bis-spiro-azaphilones and azaphilones from the fungi *Chaetomium cochliodes* VTh01 and *C. cochliodes* CTh05. *Tetrahedron*, 64(40), 9636–9645. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2008.07.040>
- Pieterse, C. M. J., Zamioudis, C., Berendsen, R. L., Weller, D. M., Van Wees, S. C. M., Bakker, P. A. H. M. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual Review of Phytopathology*, 52(1), 347–375. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102340>
- Planas, A. (2000). Bacterial 1,3-1,4- β -glucanases: structure, function and protein engineering. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1543(2), 361–382. [https://doi.org/10.1016/S0167-4838\(00\)00231-4](https://doi.org/10.1016/S0167-4838(00)00231-4)
- Poveda, J., Millen, M. R., Bailey, A. M. (2024). Analysis of *Trichoderma* as an effective biological control agent against the honey fungus (*Armillaria* spp.). *Biological Control*, 188, 105424. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2023.105424>
- Powell, K. A., Rayner, A. D. M. (1983). Ultrastructure of the rhizomorph apex in *Armillaria bulbosa* in relation to mucilage production. *Transactions of the British Mycological Society*, 81(3), 529–534. [https://doi.org/10.1016/s0007-1536\(83\)80121-1](https://doi.org/10.1016/s0007-1536(83)80121-1)
- Prospero, S., Holdenrieder, O., Rigling, D. (2004). Comparison of the virulence of *Armillaria cepistipes* and *Armillaria ostoyae* on four Norway spruce provenances. *Forest Pathology*, 34(1), 1–14. <https://doi.org/10.1046/j.1437-4781.2003.00339.x>
- Raaijmakers, J. M., De Bruijn, I., Nybroe, O., Ongena, M. (2010). Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: more than surfactants and antibiotics. *FEMS Microbiology Reviews*, 34(6), 1037–1062. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00221.x>
- Rahman, A. (1978). The effect of Armillatox on the mycelial growth and rhizomorph production by *Armillariella mellea* in culture. *European Journal of Forest Pathology*, 8(2), 75–83. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1978.tb00620.x>
- Ran, L. X., Li, Z. N., Wu, G. J., Van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M. (2005). Induction of systemic resistance against bacterial wilt in *Eucalyptus urophylla* by fluorescent *Pseudomonas* spp. *European Journal of Plant Pathology*, 113(1), 59–70. <https://doi.org/10.1007/s10658-005-0623-3>

- Rawat, P., Das, S., Shankhdhar, D., Shankhdhar, S. C. (2021). Phosphate-solubilizing microorganisms: Mechanism and their role in phosphate solubilization and Uptake. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21(1), 49–68. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00342-7>
- Raziq, F., Fox, R. T. V. (2003). Comparisons between the in vitro and in vivo efficacies of potential fungal antagonists of *Armillaria mellea*. *Biological Agriculture and Horticulture*, 21(3), 263–276. <https://doi.org/10.1080/01448765.2003.9755269>
- Raziq, F., Fox, R. T. V. (2004). Cultural techniques for improvement in biocontrol potential of fungal antagonists against *Armillaria* root rot of strawberry plants under glasshouse conditions. *Biological Agriculture and Horticulture*, 22(3), 271–287. <https://doi.org/10.1080/01448765.2004.9755290>
- Raziq, F., Fox, R. T. V. (2005). Combinations of fungal antagonists for biological control of *Armillaria* root rot of strawberry plants. *Biological Agriculture and Horticulture*, 23(1), 45–57. <https://doi.org/10.1080/01448765.2005.9755307>
- Reaves, J. L., Shaw, C. G., Roth, L. F. (1993). Infection of ponderosa pine trees by *Armillaria ostoyae*: residual inoculum versus contagion. *Northwest Science*, 67(3), 156–162.
- Reddy, E. C., Reddy, G. S., Goudar, V., Sriramula, A., Swarnalatha, G. V., Al Tawaha, A. R. M., Sayyed, R. Z. (2022). Hydrolytic enzyme producing plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in plant growth promotion and biocontrol. In: Sayyed, R.Z., Uarrota, V.G. (eds) *Secondary Metabolites and Volatiles of PGPR in Plant-Growth Promotion*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-07559-9_15
- Redfern, D. B. (1973). Growth and behaviour of *Armillaria mellea* rhizomorphs in soil. *Transactions of the British Mycological Society*, 61(3), 569–IN16. [https://doi.org/10.1016/s0007-1536\(73\)80126-3](https://doi.org/10.1016/s0007-1536(73)80126-3)
- Rishbeth, J. (1985). Infection cycle of *Armillaria* and host response. *European Journal of Forest Pathology*, 15(5–6), 332–341. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1985.tb01108.x>
- Robene-Soustrade, I., Lung-Escarmant, B., Bono, J. J., Taris, B. (1992). Identification and partial characterization of an extracellular manganese-dependent peroxidase in *Armillaria ostoyae* and *Armillaria mellea*. *European Journal of Forest Pathology*, 22(4), 227–236. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1992.tb00787.x>
- Robinson, R. M., Smith, R. H. (2001). Fumigation of regrowth karri stumps with metham-sodium to control *Armillaria luteobubalina*. *Australian Forestry*, 64(4), 209–215. <https://doi.org/10.1080/00049158.2001.10676190>
- Romero, D., De Vicente, A., Rakotoaly, R. H., Dufour, S. E., Veening, J. W., Arrebola, E., Cazorla, F. M., Kuipers, O. P., Paquot, M., Pérez-García, A. (2007). The iturin and fengycin families of lipopeptides are key factors in antagonism of *Bacillus subtilis* toward *Podosphaera fusca*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 20(4), 430–440. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-4-0430>
- Ross-Davis, A.L., Hanna, J.W., Klopfenstein N.B., Kim M.S (2012) Advances toward DNA-based identification and phylogeny of North American *Armillaria* species using elongation factor-1 alpha gene, *Mycoscience*, 53(2), 161-165. <https://doi.org/10.1007/S10267-011-0148-X>
- Ryu, C. M., Farag, M. A., Hu, C. H., Reddy, M. S., Kloepper, J. W., Paré, P. W. (2004). Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 134(3), 1017–1026. <https://doi.org/10.1104/pp.103.026583>
- Sah, S. K., Reddy, K. R., Li, J. (2016). Abscisic acid and abiotic stress tolerance in crop plants. *Frontiers in Plant Science*, 7, 571. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00571>
- Saharan, B. S., Nehra, V. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria: A critical review. *Life Sciences and Medicine Research*, 2011, 1–30.
- Sajben, E., Manczinger L., Nagy A., Kredics L., Vágvölgyi C. (2011) Characterization of pseudomonads

- isolated from decaying sporocarps of oyster mushroom. *Microbiological Research*, (166)4, 255-267, <https://doi.org/10.1016/j.micres.2010.05.002>.
- Salinas, N. R., Little, D. P. (2014). 2matrix: A utility for indel coding and phylogenetic matrix concatenation 1. *Applications in Plant Sciences*, 2(1), 1300083. <https://doi.org/10.3732/apps.1300083>
- Salo, J. M., Kedves, O., Mikkola, R., Kredics, L., Andersson, M. A., Kurnitski, J., Salonen, H. (2020). Detection of *Chaetomium globosum*, *Ch. cochliodes* and *Ch. rectangulare* during the diversity tracking of mycotoxin-producing *Chaetomium*-like isolates obtained in buildings in Finland. *Toxins*, 12(7), 443. <https://doi.org/10.3390/toxins12070443>
- Salomon, M. V., Bottini, R., de Souza Filho, G. A., Cohen, A. C., Moreno, D., Gil, M., Piccoli, P. (2014). Bacteria isolated from roots and rhizosphere of *Vitis vinifera* retard water losses, induce abscisic acid accumulation and synthesis of defense-related terpenes in in vitro cultured grapevine. *Physiologia Plantarum*, 151(4), 359–374. <https://doi.org/10.1111/ppl.12117>
- Santner, A., Calderon-Villalobos, L. I. A., Estelle, M. (2009). Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. *Nature Chemical Biology*, 5(5), 301–307. <https://doi.org/10.1038/nchembio.165>
- Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., del Carmen Orozco-Mosqueda, M., Glick, B. R. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research*, 183, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>
- Santoyo, G., Urtis-Flores, C. A., Loeza-Lara, P. D., Orozco-Mosqueda, M. del C., Glick, B. R. (2021). Rhizosphere colonization determinants by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Biology*, 10(6), 475. <https://doi.org/10.3390/biology10060475>
- Sarkar, M., Tiru, Z., Pal, A., Mandal, P. (2022). Screening of plant growth promoting fungi (PGPF) for sustainable cultivation of Tulaipanji, an endemic aromatic rice variety of Uttar Dinajpur, West Bengal, India. *Agricultural Science Digest*, 42(6), 741–746. <https://doi.org/10.18805/ag.D-5561>
- Saxena, A. K., Kumar, M., Chakdar, H., Anuroopa, N., Bagyaraj, D. J. (2020). *Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition. *Journal of Applied Microbiology*, 128(6), 1583–1594. <https://doi.org/10.1111/jam.14506>
- Schmülling, T. (2002). New insights into the functions of cytokinins in plant development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 21(1), 40–49. <https://doi.org/10.1007/s003440010046>
- Schwarz, G. (1978). Estimating the dimension of a model. *Annals of Statistics*. 461-464.
- Schwyn, B., Neilands, J.B. (1987). Universal CAS assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*, 160, 47–56. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90612-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90612-9)
- Segarra, G., Van Der Ent, S., Trillas, I., Pieterse, C. M. J. (2009). MYB72, a node of convergence in induced systemic resistance triggered by a fungal and a bacterial beneficial microbe. *Plant Biology*, 11(1), 90–96. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2008.00162.x>
- Sethi, S., Datta, A., Gupta, B. L., Gupta, S. (2013). Optimization of cellulase production from bacteria isolated from soil. *International Scholarly Research Notices*, 2013(1), 985685.
- Shahwar, D., Mushtaq, Z., Mushtaq, H., Alqarawi, A. A., Park, Y., Alshahrani, T. S., Faizan, S. (2023). Role of microbial inoculants as bio fertilizers for improving crop productivity: A review. *Heliyon*, 9(6), e16134. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16134>
- Shahzad, S. M., Arif, M. S., Riaz, M., Iqbal, Z., Ashraf, M. (2013). PGPR with varied ACC-deaminase activity induced different growth and yield response in maize (*Zea mays* L.) under fertilized conditions. *European Journal of Soil Biology*, 57, 27–34.

<https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2013.04.002>

- Sharma, A., Johri, B., Sharma, A., Glick, B. (2003). Plant growth-promoting bacterium *Pseudomonas* sp. strain GRP3 influences iron acquisition in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilzeck). *Soil Biology and Biochemistry*, 35(7), 887–894. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00119-6](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00119-6)
- Sharma, N., Sharma, K. P., Gaur, R. K., Gupta, V. K. (2010). Role of chitinase in plant defense. *Asian Journal of Biochemistry*, 6(1), 29–37. <https://doi.org/10.3923/ajb.2011.29.37>
- Sharma, R., Kulkarni, G., Sonawane, M. S., Shouche, Y. S. (2013). A new endophytic species of *Chaetomium* from *Jatropha podagrica*. *Mycotaxon*, 124(Mcc 1019), 117–126. <https://doi.org/10.5248/124.117>
- Shoresh, M., Harman, G.E., Mastouri, F. (2010) Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annu Rev Phytopathol.* 48, 21-43. doi: 10.1146/annurev-phyto-073009-114450.
- Shrestha, A., Sultana, R., Chae, J.-C., Kim, K., Lee, K.J. (2015). *Bacillus thuringiensis* C25 which is rich in cell wall degrading enzymes efficiently controls lettuce drop caused by *Sclerotinia minor*. *European Journal of Plant Pathology*, 142(3), 577–589. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0636-5>
- Sierra, A. P., Whitehead, D. S., Whitehead, M. P. (1999). Investigation of a PCR-based method for the routine identification of British *Armillaria* species. *Mycological Research*, 103(12), 1631–1636. <https://doi.org/10.1017/S0953756299001148>
- Simmons, M. P., Ochoterena, H. (2000). Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Systematic Biology*, 49(2), 369–381. <https://doi.org/10.1093/sysbio/49.2.369>
- Singh, A., Rautela, R., Cameotra, S. (2014). Substrate dependent *in vitro* antifungal activity of *Bacillus* sp. strain AR2. *Microbial Cell Factories*, 13(1), 67. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-67>
- Singh, J. S., Seneviratne, G. (2017). *Trichoderma*: A potent fungus as biological control agent. In J. S. Singh, G. Seneviratne (Szerk.), *Agro-Environmental Sustainability*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-49724-2>
- Singh, R. S., Singh, T., Pandey, A. (2019). Microbial enzymes—An overview. In R. S. Singh, R. R. Singhania, A. Pandey, L. Christian (Szerk.), *Biomass, Biofuels, Biochemicals Advances in Enzyme Technology* (o. 1–40). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64114-4.00001-7>
- Singh, V. P., Sharma, D., Prajapati, S., Bamal, A., Tyagi, S. (2020). A comparative study of cellulase production: Minireview. *Journal of Scientific and Innovative Research*, 9(2), 69–73. <https://doi.org/10.31254/jsir.2020.9206>
- Sipos, G., Anderson, J. B., Nagy, L. G. (2018). *Armillaria*. *Current Biology*, 28(7), 297–298. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.01.026>
- Someya, N., Tsuchiya, K., Yoshida, T., Noguchi, M. T., Akutsu, K., Sawada, H. (2007). Co-inoculation of an antibiotic-producing bacterium and a lytic enzyme-producing bacterium for the biocontrol of tomato wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Biocontrol Science*, 12(1), 1–6. <https://doi.org/10.4265/bio.12.1>
- Song, M., Young, H., Kim, Y. H. (2014). Antagonistic *Bacillus* species as a biological control of ginseng root rot caused by *Fusarium* cf. *incarnatum*. *Journal of Ginseng Research*, 38(2), 136–145. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2013.11.016>
- Sreejith, S., Aswani, R., Radhakrishnan, E. K. (2019). Agriculturally important biosynthetic features of endophytic microorganisms. In S. K. Verma and J. F. White Jr (Szerk.), *Seed Endophytes* (o. 423–447). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-10504-4_20

- Sujatha, N., Ammani, K. (2013). Siderophore production by the isolates of fluorescent Pseudomonads. *International Journal of Current Research and Review*, 05(20), 1–7.
- Swain, M. R., Ray, R. C., Nautiyal, C. S. (2008). Biocontrol efficacy of *Bacillus subtilis* strains isolated from cow dung against postharvest yam (*L.*) pathogens. *Current Microbiology*, 57(5), 407–411. <https://doi.org/10.1007/s00284-008-9213-x>
- Syamsia, S., Idhan, A., Firmansyah, A. P., Noerfitriyani, N., Rahim, I., Kesaulya, H., Armus, R. (2021). Combination on endophytic fungal as the plant growth-promoting fungi (PGPF) on cucumber (*Cucumis sativus*). *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(3), 1194–1202. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220315>
- Szwajkowska-Michałek, L., Kwaśna, H., Łakomy, P., Perkowski, J. (2012). Inhibition of *Armillaria* and *Heterobasidion* growth by *Penicillium adametzii* isolated from *Pinus sylvestris* forest soil. *Forest Pathology*, 42(6), 454–466. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2012.00780.x>
- Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Iqbal Khan, M. S., Shahid, N., Aaliya, K. (2017). Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR. *Applied Soil Ecology*, 121, 102–117. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.09.030>
- Tagore, G. S., Namdeo, S. L., Sharma, S. K., Kumar, N. (2013). Effect of *Rhizobium* and phosphate solubilizing bacterial inoculants on symbiotic traits, nodule leghemoglobin, and yield of chickpea genotypes. *International Journal of Agronomy*, 2013, 1–8. <https://doi.org/C>
- Tarafdar, J. C., Gharu, A. (2006). Mobilization of organic and poorly soluble phosphates by *Chaetomium globosum*. *Applied Soil Ecology*, 32, 273–283. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2005.08.005>
- Thomidis, T., Exadaktylou, E. (2012). Effectiveness of cyproconazole to control *Armillaria* root rot of apple, walnut and kiwifruit. *Crop Protection*, 36, 49–51. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.02.003>
- Tian, Y., Fu, X., Zhang, G., Zhang, R., Kang, Z., Gao, K., Mendgen, K. (2022). Mechanisms in growth-promoting of cucumber by the endophytic fungus *Chaetomium globosum* strain ND35. *Journal of Fungi*, 8(2), 180. <https://doi.org/10.3390/jof8020180>
- Tien, T. M., Gaskins, M. H., Hubbell, D. H. (1979). Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). *Applied and Environmental Microbiology*, 37(5), 1016–1024.
- Torres, M. J., Brandan, C. P., Petroselli, G., Erra-Balsells, R., Audisio, M. C. (2016). Antagonistic effects of *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* and *B. amyloliquefaciens* against *Macrophomina phaseolina*: SEM study of fungal changes and UV-MALDI-TOF MS analysis of their bioactive compounds. *Microbiological Research*, 182, 31–39. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.09.005>
- Travadon, R., Smith, M. E., Fujiyoshi, P., Douhan, G. W., Rizzo, D. M., Baumgartner, K. (2012). Inferring dispersal patterns of the generalist root fungus *Armillaria mellea*. *New Phytologist*, 193(4), 959–969. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.04015.x>
- Tsavkelova, E. A., Cherdyntseva, T. A., Botina, S. G., Netrusov, A. I. (2007). Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. *Microbiological research*, 162(1), 69-76. [10.1016/j.micres.2006.07.014](https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.07.014)
- Tsopelas, P. (1999). Distribution and ecology of *Armillaria* species in Greece. *European Journal of Forest Pathology*, 29(2), 103–116. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0329.1999.00139.x>
- Usha, S., Padmavathi, T. (2015). Effect of plant growth promoting microorganisms from rhizosphere of *Piper nigrum*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences Microbiology*, 4, 835–846.
- Vaghasia, P. M., Davariya, R. L., Daki, R. N. (2017). Effect of Bio-Phos (*Chaetomium globosum*) on

- Castor (*Ricinus communis* L.) yield at different levels of phosphorus under irrigated conditions. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(8), 1974–1978. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.609.241>
- Valencia-Cantero, E., Villegas-Moreno, J., Sánchez-Yáñez, J. M., Peña-Cabriales, J. J., Fariás-Rodríguez, R. (2005). Inhibición de *Fusarium oxysporum* por cepas mutantes de *Pseudomonas fluorescens* ZUM80 incapaces de producir sideróforos. *TERRA Latinoamericana*, 23(1), 81–88. <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/573/57323111.pdf>
- Van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M., Van Der Heijdt, W. H. W., Wendehenne, D., Pugin, A. (2008). Early responses of tobacco suspension cells to rhizobacterial elicitors of induced systemic resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 21(12), 1609–1621. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-12-1609>
- Vansuyt, G., Robin, A., Briat, J., Curie, C., Lemanceau, P. (2007). Iron acquisition from Fe-pyoverdine by *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 20(4), 441–447. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-4-0441>
- Verma, A., Singh, V. K., Gaur, S. (2016). Computational based functional analysis of *Bacillus* phytases. *Computational Biology and Chemistry*, 60, 53–58. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2015.11.001>
- Viswanath, V., Beena, A. K., Silva, D.J. (2018). Characterization of a cellulase producing *Pseudomonas fluorescens* Isolated from agricultural waste. *Biotechnological Research*, 4(4), 109-113.
- Vives-Peris, V., Gómez-Cadenas, A., Pérez-Clemente, R. M. (2018). Salt stress alleviation in citrus plants by plant growth-promoting rhizobacteria *Pseudomonas putida* and *Novosphingobium* sp. *Plant Cell Reports*, 37(11), 1557–1569. <https://doi.org/10.1007/s00299-018-2328-z>
- Waksman, S. A., Bugie, E., Reilly, H. C. (1944). Bacteriostatic and bactericidal properties of antibiotic substances, with special reference to plant-pathogenic bacteria. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 71(2), 107. <https://doi.org/10.2307/2481411>
- Wang, J., Qian, X., Yang, T., Hou, D., Zhang, G., Li, G. (2023). Fitoterapia Chaetomadraines A – E, a class of siderophores with potent neuroprotective activity from the fungus *Chaetomium madrasense* cib-1. *Fitoterapia*, 164, 105351. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2022.105351>
- Wang, T., Liang, Y., Wu, M., Chen, Z., Lin, J., Yang, L. (2015). Natural products from *Bacillus subtilis* with antimicrobial properties. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 23(4), 744–754. <https://doi.org/10.1016/j.cjche.2014.05.020>
- Wang, X. W., Houbraken, J., Groenewald, J. Z., Meijer, M., Andersen, B., Nielsen, K. F., Crous, P. W., Samson, R. A. (2016). Diversity and taxonomy of *Chaetomium* and *Chaetomium*-like fungi from indoor environments. *Studies in Mycology*, 84, 145–224. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2016.11.005>
- Wang, X. W., Wang, X. L., Liu, F. J., Zhao, X. M., Li, J., Cai, L. (2014). Phylogenetic assessment of *Chaetomium indicum* and allied species, with the introduction of three new species and epitypification of *C. funicola* and *C. indicum*. *Mycological Progress*, 13(3), 719–732. <https://doi.org/10.1007/s11557-013-0955-x>
- Wani, S. H., Kumar, V., Shriram, V., Sah, S. K. (2016). Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants. *The Crop Journal*, 4(3), 162–176. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2016.01.010>
- Wargo, P. M., Carey, A. C. (2001). Effects of metals and pH on in vitro growth of *Armillaria ostoyae* and other root and butt rot fungi of red spruce. *Forest Pathology*, 31(1), 5–24. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0329.2001.00218.x>

- West, J. S., Fox, R. T. V. (2002). Stimulation of *Armillaria mellea* by phenolic fungicides. *Annals of Applied Biology*, 140(3), 291–295. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2002.tb00184.x>
- Woo, S., Fogliano, V., Scala, F., Lorito, M. (2002). Synergism between fungal enzymes and bacterial antibiotics may enhance biocontrol. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81, 353–356. <https://doi.org/10.1023/A:1020540818163>
- Yadav, A. N., Verma, P., Divot, K., Rana, K. L., Kumar, V., Singh, B., Chauahan, V. S., Sugitha, T., Saxena, A. K., Dhaliwal, H. S. (2017). Plant microbiomes and its beneficial multifunctional plant growth promoting attributes. *International Journal of Environmental Sciences and Natural Resources*, 3(1). <https://doi.org/10.19080/IJESNR.2017.03.555601>
- Yafetto, L., Davis, D. J., Money, N. P. (2009). Biomechanics of invasive growth by *Armillaria rhizomorphs*. *Fungal Genetics and Biology*, 46(9), 688–694. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2009.04.005>
- Yan, W., Cao, L. L., Zhang, Y. Y., Zhao, R., Zhao, S. S., Khan, B., Ye, Y. H. (2018). New metabolites from endophytic fungus *Chaetomium globosum* CDW7. *Molecules*, 23(11), 2–8. <https://doi.org/10.3390/molecules23112873>
- Yehuda, Z., Shenker, M., Romheld, V., Marschner, H., Hadar, Y., Chen, Y., Römheld, V., Marschner, H., Hadar, Y., Chen, Y. (1996). The role of ligand exchange in the uptake of iron from microbial siderophores by cramineous plants 1r2. *Plant Physiology*, 112(3), 1273–1280. <https://doi.org/10.1104/PP.112.3.1273>
- Yu, X., Ai, C., Xin, L., Zhou, G. (2011). The siderophore-producing bacterium, *Bacillus subtilis* CAS15, has a biocontrol effect on Fusarium wilt and promotes the growth of pepper. *European Journal of Soil Biology*, 47(2), 138–145. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2010.11.001>
- Zhang, G., Zhang, Y., Qin, J., Qu, X., Liu, J., Li, X., Pan, H. (2013). Antifungal metabolites produced by *Chaetomium globosum* No.04, an endophytic fungus isolated from *Ginkgo biloba*. *Indian Journal of Microbiology*, 53(2), 175–180. <https://doi.org/10.1007/s12088-013-0362-7>
- Zhang, P., Xie, G., Wang, L., Xing, Y. (2022). *Bacillus velezensis* BY6 promotes growth of poplar and improves resistance contributing to the biocontrol of *Armillaria solidipes*. *Microorganisms*, 10(12), 2472. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122472>
- Zhang, Q., Li, H.-Q., Zong, S.-C., Gao, J.-M., Zhang, A.-L. (2012). Chemical and bioactive diversities of the genus *Chaetomium* secondary metabolites. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 12(2), 127–148. <https://doi.org/10.2174/138955712798995066>
- Zhang, Y., He, L., Chen, Z., Wang, Q., Qian, M., Sheng, X. (2011). Characterization of ACC deaminase-producing endophytic bacteria isolated from copper-tolerant plants and their potential in promoting the growth and copper accumulation of *Brassica napus*. *Chemosphere*, 83(1), 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.01.041>
- Zhao, L., Xu, Y., Lai, X. (2017). Antagonistic endophytic bacteria associated with nodules of soybean (*Glycine max* L.) and plant growth-promoting properties. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(2), 269–278. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.06.007>
- Zhao, Y., Selvaraj, J. N., Xing, F., Zhou, L., Wang, Y., Song, H., Tan, X., Sun, L., Sangare, L., Folly, Y. M. E., Liu, Y. (2014). Antagonistic action of *Bacillus subtilis* strain SG6 on *Fusarium graminearum*. *PLoS ONE*, 9(3), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092486>
- Zhou, X., Lu, Z., Lv, F., Zhao, H., Wang, Y., Bie, X. (2011). Antagonistic action of *Bacillus subtilis* strain fmbj on the postharvest pathogen *Rhizopus stolonifer*. *Journal of Food Science*, 76(5), 254–259. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02160.x>
- Zimmermann, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and

Beauveria brongniartii. *Biocontrol Science and Technology*, 17(6), 553–596.
<https://doi.org/10.1080/09583150701309006>

Zouari, I., Jlaiel, L., Tounsi, S., Trigui, M. (2016). Biocontrol activity of the endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* strain CEIZ-11 against *Pythium aphanidermatum* and purification of its bioactive compounds. *Biological Control*, 100, 54–62.
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.05.012>

11. FÜGGELÉK

1. táblázat: A vizsgálatban részt vevő *Chaetomium* és *Chaetomium*-szerű izolátumok (vastagon kiemelve), valamint a referencia- (*) és típusörzsek (T) törzsgyűjteményi azonosítói, izolálásuk helyszíne és Genbank azonosítói.

Fajok	Törzsgyűjteményi azonosító	Laborkód	Izolálás helyszíne	NCBI GenBank-i azonosító			
				<i>tefla</i>	ITS	<i>rpb2</i>	<i>tub2</i>
<i>Achaetomium globosum</i> *	CBS 332.67 T	-	Rizoszféra, Lucknow, India	KM655479			
<i>Ac. strumarium</i> *	CBS 333.67 T	-	Talaj, Lucknow, India	KC503252			
<i>Chaetomium afropilosum</i> *	CBS 145.38 T	-	Ismeretlen	KT214713			
<i>Ch. angustispirale</i> *	CBS 137.58 T	-	<i>Fraxinus</i> sp., Tellerman erdő, Baleshev régió, Oroszország	KF001734			
<i>Ch. ascotrichoides</i> *	CBS 113.83	-	<i>Gossypium humitectum</i> , Argentína	KF001742			
<i>Ch. capillare</i> *	CBS 128489 T	-	Állati szőr, Kalifornia, USA	KT214724	NR_144860	KT214686	KT214760
<i>Ch. cervicola</i> *	CBS 128492 T	-	<i>Homo sapiens</i> nyak, Texas, USA	KT214697			
<i>Ch. citrinum</i> *	CBS 693.82 T	-	Rizsföld, Tochigi, Japán	KT214730	NR_144863	KT214691	KT214764
<i>Ch. coarctatum</i> *	CBS 162.62 T	-	<i>Campanula medium</i> mag, Szentpétervár, Oroszország,	KF001712			
<i>Ch. cochliodes</i>	SZMC 22473	T364	Fal, szoba, lakás, Tatabánya, Magyarország	MW556657			
<i>Ch. cochliodes</i>	SZMC 24764	OT7	Leülepedett por, iroda, Helsinki, Finnország	MT498103			
<i>Ch. cochliodes</i>	SZMC 26528	OT7b	Leülepedett por, iroda, Helsinki, Finnország	MT498102			
<i>Ch. cochliodes</i> *	CBS 155.52 T	-	Állati trágya, USA	KF001721	NR_151835	KF001811	KC109772
<i>Ch. contagiosum</i> *	CBS 128494 T	-	<i>Homo sapiens</i> szaruhártya, USA	KT214694	NR_144846	KT214659	KT214732
<i>Ch. cucumericola</i> *	CBS 378.71 T	-	Izmir, Törökország	KT214718			
<i>Ch. elatum</i> *	CBS 374.66 T	-	Bomló levél, Aptos, Kalifornia, USA	KF001730			
<i>Ch. elatum</i> *	CBS 142034 T	-	Karton, Dánia	-	KX976612	KX976832	KX976954

Fajok	Törzsgyűjteményi azonosító	Laborkód	Izolálás helyszíne	NCBI GenBank-i azonosító			
				<i>tefla</i>	ITS	<i>rpb2</i>	<i>tub2</i>
<i>Ch. fimeti</i> *	CBS 139034 T	-	Talaj, Németország	KT214698			
<i>Ch. globosporum</i> *	CBS 108.83 T	-	<i>Triticum aestivum</i> zöld levele, Németország	KF001735			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 22474	T365	Levegő, hotel, Budapest, Magyarország	MW556658			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 22478	T369	Levegő, üzlet, Szentendre, Magyarország	MW556659	MW541923		
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 22481	T372A	Házi por, alagsor, lakás, Budapest, Magyarország	MW556660			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 22788	T428B	Plafon, lakás, Budapest, Magyarország	MW556661			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 23266	T457D	Konyhában lévő kerámialapok alatt, lakás, Csepel, Magyarország	MW556662			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 23275	T459A	Levegő, gyerekszoba gipszkarton faláról, ház, Budapest, Magyarország	MW556663			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 23688	T499	Házi por, nappali, lakás, Budapest, Magyarország	MW556664			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 24035	T536A	Fal, konyha, lakás, Budapest, Magyarország	MW556665			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 24451	C13/LM	Kiáramló levegő szűrője, iskola, Vantaa, Finnország	MW556666			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 24455	C22/LM	Kiáramló levegő szűrője, iskola, Vantaa, Finnország	MT498109			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 24456	MH5	Leülepedett por, középület, Espoo, Finnország	MT498108			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 24464	MÖ9	Leülepedett por, sertésól, Orimattila, Finnország	MT498106	MW541924		
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 24508	T582D	Garázs fal, lakás, Budapest, Magyarország	MW556667			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 24765	2c/26	Lülepedett por, lakás, Vantaa, Finnország	MW310244			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 24766	2b/26	Leülepedett por, lakás, Vantaa, Finnország	MT498110			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 24768	C22	Leülepedett por, lakás Vantaa, Finnország	MW556668			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 24769	MH52	Leülepedett por, középület, Espoo, Finnország	MT498107			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 24938	626C	Fal, nappali, ház, Kazincbarcika, Magyarország	MW556670			

Fajok	Törzsgyűjteményi azonosító	Laborkód	Izolálás helyszíne	NCBI GenBank-i azonosító			
				<i>tefla</i>	ITS	<i>rpb2</i>	<i>tub2</i>
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 26530	Ruk10	Leülepedett por, lakás, Vantaa, Finnország	MT498101	MW541927		
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 26534	MTAV35	Leülepedett por, Oului Egyetem, Finnország				
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 26539	3b/APP	Kiáramló levegő szűrője, középület, Espoo, Finnország	MW588207			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 26845	T706	Fal, konyha, lakás, Budapest, Magyarország	MW556672			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 26857	T711	Tapéta, nappali, lakás, Budapest, Magyarország	MW556673			
<i>Ch. globosum</i>	SZMC 27052	T730A	Sri Lankáról importált csomagolópapír, Pécs, Magyarország	MW556674			
<i>Ch. globosum</i> *	CBS 160.62 T	-	Komposzt, Németország	KT214704	NR_144851	KT214666	KT214742
<i>Ch. globosum</i> *	MUCL 39526 T	-	<i>Juncus</i> sp. elhalt szára, Magyarország	KF001710			
<i>Ch. globosum</i> *	CBS 666.82	-	Ismeretlen	-	KX976617	KX976833	KX976959
<i>Ch. graminiforme</i> *	CBS 506.84 T	-	<i>Acer</i> sp., Muskoka kerület, Ontario, Kanada	KT214725			
<i>Ch. grande</i> *	CBS 126780 T	-	<i>Triticum aestivum</i> levele, Naghadeh, Irán	KT214692			
<i>Ch. interruptum</i>	SZMC 23937	T531B	Tapéta alatt, iroda, Budapest, Magyarország	MW588206	MW301425		
<i>Ch. interruptum</i> *	CBS 126660 T	-	<i>Triticum aestivum</i> mag, Hadishahr, Kelet-Azerbajdzsán tartomány, Irán	KT214703	KT214564	KT214665	-
<i>Ch. madrasense</i> *	CBS 315.74 T	-	<i>Pennisetum typhoides</i> rizoszférája, Chennai, Tamilnadu, India	KF001741			
<i>Ch. novozelandicum</i> *	CBS 124555 T	-	Elhalt bomló gally, Otaki, Új-Zéland	KT214715			
<i>Ch. pilosum</i> *	CBS 335.67 T	-	<i>Triticum aestivum</i> szemtermése, Perth, Nyugat-Ausztrália	KT214729	NR_144862	FJ666387	KT214763
<i>Ch. pseudocochliodes</i> *	CGMCC 3.9441 T	-	<i>Panax notoginseng</i> gyökerei, Wenshan, Yunnan tartomány, Kína	KF001726			
<i>Ch. pseudoglobosum</i> *	CBS 574.71 T	-	Ismeretlen	KT214712			
<i>Ch. rectangulare</i>	SZMC 26531	MO13	Leülepedett por, sertésól, Orimattila, Finnország	MT498104	MW541928		

Fajok	Törzsgyűjteményi azonosító	Laborkód	Izolálás helyszíne	NCBI GenBank-i azonosító			
				<i>tefla</i>	ITS	<i>rpb2</i>	<i>tub2</i>
<i>Ch. rectangulare</i>	SZMC 26535	MO15	Leüledett por, sertésól, Orimattila, Finnország	MT498105	MW541929		
<i>Ch. rectangulare*</i>	CBS 126778 T	-	<i>Hordeum vulgare</i> levele, Salmas, Nyugat-Azerbajdzsán tartomány, Irán	KT214726	NR_144817	HM365285	KT214688
<i>Ch. spiculipilium*</i>	CBS 373.66 T	-	Bomló növényi törmelék, Kalifornia, USA	KF001719			
<i>Ch. spirochaete*</i>	CBS 730.84 T	-	Állati trágya, Great Smokey Mountains, Tennessee, USA	KF001729	NR_144823	KF001819	JN256191
<i>Ch. subaffine*</i>	CBS 637.91 T	-	Gabona, Szovjetunió	KF001727			
<i>Ch. subfimeii*</i>	CBS 370.66 T	-	Papír és növényi anyag, Cardiff, Wales	KT214701	NR_144850	FJ666385	KT214739
<i>Ch. subglobosum*</i>	CBS 149.60 T	-	Elhalt lágyszárú, Szentpétervár, Oroszország	KF001718			
<i>Ch. telluricola*</i>	CBS 151.59 T	-	Talaj, Suffolk, Lakenheath Warren, Egyesült Királyság	KT214723			
<i>Ch. tenue*</i>	CBS 139.38 T	-	Ismeretlen	KT214707			
<i>Ch. umbonatum*</i>	CBS 293.83 T	-	Talaj, Nova Scotia, Kanada	KT214714			
<i>Ch. undulatum*</i>	CBS 126775 T	-	<i>Hordeum vulgare</i> levele, Bonab, Kelet-Azerbajdzsán tartomány, Irán	KT214720			
<i>Ch. unguicola*</i>	CBS 128446 T	-	<i>Homo sapiens</i> köröm, Los Angeles, USA	KT214706			
<i>Ch. megalocarpum*</i>	CBS 149.59 T	-	<i>Ficus carica</i> levele, Görögország	KF001738			
<i>D. dolichotrichus*</i>	CBS 162.48 T	-	USA	KC485023	HM449049	KX976852	JF772462
<i>D. erectus*</i>	CBS 140.56 T	-	<i>Petroselinum sativum</i> , USA	KC485018	HM449044	KX976854	JF772458
<i>D. funicola*</i>	CBS 159.52 T	-	Németország	KC485013	GU563369	KX976856	JF772461
<i>D. funicola*</i>	CBS 136.38	-	Ismeretlen	-	-	KX976857	-
<i>D. funicola*</i>	DTO 333-F1	-	Por, kültér, Dánia	-	KX976658	KX976858	KX977000
<i>D. fusus*</i>	CBS 372.66 T	-	Ismeretlen	KM655463	KM655333	KX976859	KX977002
<i>D. indicus*</i>	CGMCC 3.14184 T	-	<i>Panax notoginseng</i> rizoszférája, Wenshan, Yunnan tartomány	KC485005	GU563367	KX976861	JF772453

Fajok	Törzsgyűjteményi azonosító	Laborkód	Izolálás helyszíne	NCBI GenBank-i azonosító			
				<i>tefla</i>	ITS	<i>rpb2</i>	<i>tub2</i>
<i>D. pratensis</i> *	CGMCC 3.14181 T	-	Talaj, Huangnan, Csinghaj tartomány, Kína	KC485017	GU563372	KX976866	JF772450
<i>D. pseudoerectus</i> *	CBS 252.75 T	-	Levegő, Uttar Pradesh, India	-	NR_147674	KX976869	KX977009
<i>D. pseudofunicola</i> *	CBS 142033 T	-	Por, USA	-	KX976668	KX976870	KX977010
<i>D. ramosissimus</i> *	CGMCC 3.14183 T	-	<i>Panax notoginseng</i> rizoszférája, Wenshan, Yunnan tartomány, Kína	KC485021	GU563371	KX976871	JF772452
<i>D. reflexus</i> *	CBS 157.49 T	-	Csírázó mag, USA	KC485027	HM449051	KX976873	JF772460
<i>D. subfunicola</i> *	CGMCC 3.12892 T	-	Talaj, Shihezi, Xinjiang Autonóm Terület, Kína	KC485014	JX867125	KX976875	JX867122
<i>D. subfunicola</i> *	CGMCC 3.9466	-	<i>Panax notoginseng</i> rizoszférája, Yunnan, Kína	KC485016	GU563368	KX976876	JF772446
<i>D. subfunicola</i> *	CBS 794.83	-	Papír, Svédország	-	GU563368	KX976876	KX977013
<i>D. subfunicola</i> *	CBS 812.73	-	Pisztolyszij, Új-Guinea	-	KX976670	KX976877	KX977012
<i>D. variostiolatus</i> *	CBS 179.84	-	Ponyva, Új-Guinea	-	NR_147676	KX976879	KX977014
<i>D. variostiolatus</i> *	DTO 319-B9	-	Por, Thaiföld	-	KX976674	KX976881	KX977016
<i>D. variostiolatus</i> *	DTO 319-A2	-	Por, USA	-	KX976673	KX976880	KX977015
<i>Dichotomopilus</i> sp.	SZMC 26527	C5/LM	Kiáramló levegő szűrője, iskola, Vantaa, Finnország	MW556671	MW541925	MZ665530	MZ665528
<i>Dichotomopilus</i> sp.	SZMC 26529	Ch1/tu	Beáramló levegő szűrője, középület, Espoo, Finnország	MT644127	MW541926	MZ665531	MZ665529