

TRICHODERMA-ELLENES VEGYÜLETEK KERESÉSE

FEHÉR LÁSZLÓ¹ MOLNÁR JÓZSEF² FÖLDEÁK SÁNDOR³
 CSÉCSI LAJOSNÉ¹ BUCSI IMRÉNÉ¹ BEREK IMRE¹

¹KÉE, ÉFK, Élelmiszeripari Mikrobiológia és Biotechnológia Tanszék

²Szentgyörgyi Albert Orvostudományi Egyetem, Mikrobiológiai Intézet

³JATE Szerveskémiai Tanszék

ÖSSZEFOGLALÓ

*A kelet-európai ill. magyarországi klimatikus tényezők negatív irányú változása egyre inkább előtérbe hozza a természet gombák szaporítására irányuló kísérleteket. A természet gombák mennyiségének fokozására az egyik lehetőség a károsító fertőzések leküzdése. A legkomolyabb probléma a *Trichoderma viride* (zöldpenész) fertőzés, amely akár 80 %-os termés kiesést is okozhat. *Trichoderma* fertőzés ellen Magyarországon Chinoin Fundazol WP-t használnak, ami viszont a termőtestben akkumulálódik, így az emberi szervezetben károsító hatást fejthet ki.*

*Ezért kezdtük el olyan új potenciális fungicidek kiválasztását amelyek hatásosak a *Trichoderma* ellen, de a természet gombák szaporodását nem gátolják, valamint az emberi szervezetre sem fejtenek ki károsító hatást. Több mint 60 különböző szerkezetű kémiai anyagot teszteltünk, amelyekből 2 vegyületet - Klórpromazin és egy szilíciumos származéka - találtunk további vizsgálatokra érdemesnek. Ezek a vegyületek 10^{-3} M koncentrációban gátolják a *Trichoderma* fejlődését, míg a természet gombákra - laska (*Pleurotus ostreatus*), shiitake (*Lentinus edodes*) - ilyen hatással nincsenek. Mivel a klórpromazin jelenleg is használatban lévő humán gyógyszer, felmerül a lehetőség, hogy laska és shiitake természetnél a *Trichoderma* leküzdésére felhasználható.*

1. BEVEZETÉS

Az ehető gombák táplálkozásélettani hatása, jelentősége közismert. Általános cél minél többet, többfélét hatékonyan termelni. Jelenleg az egyik legnehezebb feladat újabb fajokat termesztésbe vonni. Könnyebbnek látszik a már termesztésbe vont 8-10 gombafaj előállításának hatékonyságát fokozni. Ez történhet nemesítés révén, a termesztés technológiájának fejlesztésével, vagy a természetes kórokozók, kártevők kiküszöbölése, leküzdése révén.

Hazai termesztők elsősorban a laska (*Pleurotus ostreatus*) és csiperke (*Agaricus bisporus*) termesztését favorizálják. Igen erőteljesen növekszik az igény shiitake (*Lentinus edodes*) előállítására is. Hazánkban a termesztett laska évi mennyisége 1000 tonnáról (1991) 4000 tonnára (1993) nőtt. A fent említett gombáknak és termesztőiknek is „közellensége” a *Trichoderma viride* zöld penész, amely a komposzt anyagon és a gombán egyaránt szaporodva óriási károkat okoz. Magyarországon a gombatermesztésben a penész fertőzések megelőzésére használt fungicidek száma igen kevés, felhasználásuk nem szabályozott; a nemzetközi szabványok (és a konkurencia) miatt jelentős exportkiesést is okozhat. Ez volt az oka, hogy újabb, eddig gyakorlatban még nem alkalmazott fungicidek keresését megkezdtük.

2. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

2.1 Anyakok

2.1.1. Gombák:

Lentinus edodes (shiitake)

Pleurotus ostreatus (laska)

Trichoderma viride (zöld penész, vad típus)

2.1.2 Táptalaj: malátás agar (*The Oxoid Manual L39*)

2.1.3 Vizsgált potenciális antifungális vegyületek

SZOTE Mikrobiológiai Intézetétől származó vegyületek:

Teperin, Melipramin, Pipolphen, d-Tisarcin (gyógyszerek)

JATE Szerveskémiiai Intézetétől kapott vegyületek:

Benzimidazol származékok (9 db)

Benzoésav származékok (10 db)

Indol származékok (7 db)

Fenotiazin származékok (5 db)

Rutén származékok (4 db)

Klórpromazin (gyógyszer) és sziliciumos származéka (2 db)

Egyéb vegyületek (26 db)

2.2 Módszerek

A vegyületek ehető gombákra gyakorolt hatásának vizsgálatához táptalajhígítási módszert alkalmaztunk, az inokulálást agarpogácsával végeztük.

A Trichodermákra gyakorolt gátlás esetén a vegyületeket szintén táptalaj hígítási módszerrel juttattuk be a tápközegbe, a gomba felvitele a lemezre spóraszuszpenzióból kaccsal történt.

A gátló hatást a telepátmérő mérésével határoztuk meg a kontrollhoz viszonyítva 7 napos inkubálás után.

3. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

1. táblázat: Szintetikus vegyületek hatása magasabbrendű gombákra és *Trichodermára*

Hatóanyag 1×10^{-3} M/cm ³	<i>Pleurotus ostreatus</i> Telepátmérő/mm		<i>Lentinus edodes</i> Telepátmérő/mm		<i>Trichoderma viride</i> Telepátmérő/mm	
	H.	K.	H.	K.	H.	K.
Benzimidazol/9	30	60	36	46	-	SZ
Benzoészav/9	18	60	-	46	-	SZ
Indol/7	18	60	35	46	25	SZ
Fenotiazin/5	45	60	40	46	+	SZ
Rutén/4	+	60	+	46	-	SZ
Klórpromazin	55	60	40	46	-	SZ
Melipramin	30	60	20	46	-	SZ
Teperin	+	60	18	46	-	SZ
Pipolphen	28	60	16	46	-	SZ
d-Tisarcin	39	60	30	46	-	SZ

Jelmagyarázat:

H : hatóanyagot tartalmazó táptalajon mért telep átmérő mm-ben

K: kontroll

- nincs növekedés

+ csak az inokulumon volt növekedés

sz. szőnyegszerű növekedés

A hatásosnak bizonyult hatóanyagokat 5 vegyületcsoportra osztottuk, mellettük feltüntettük a származékaik számát, amelyeket vizsgáltunk. Itt csak a leghatásosabb anyagokkal kapott eredményeket mutatjuk be. (1. táblázat)

A hatóanyagok az indol származék kivételével 10^{-3} M koncentrációban teljes gátlást mutattak a *Trichodermával* szemben. Kisebb-nagyobb gátlóhatást tapasztaltunk az ehető gombákkal szemben is. A rutén származékok egyike a laskát és shiitakét csak a korongon engedték növekedni, a hifafonalak nem tudtak növekedési zónát képezni a korong körül. A fenotiazin származékok is igen hatásosnak bizonyultak. A kontrollhoz képest, gátlás kis mértékben mutatkozott. Laska esetében 40 mm és a kontrollnál 60 mm átmérőjű telepet tudott képezni a gomba.

A gyógyszereknél (Klórpromazin, Melipramin, Teperin, Pipolphen, d-Tisarcin) 10^{-3} M koncentrációban teljes gátlást tapasztaltunk a

Trichodermával szemben . A Teperin a laskát csak a korongon (inokulum) engedte növekedni. A többi gyógyszer az ehets gombákra nem hatott ilyen nagy mértékben. A Pipolphen esetében 28 mm-es illetve 16 mm-es növekedési zónát mértünk az ehets gombáknál, s ez egy hét után csak kismértékű növekedésnek számít. A Klórpromazin az a vegyület a, amely a Trichodermát nem engedi növekedni, azonban a laskát és shiitakét nem gátolja.

A továbbiakban a Klórpromazin mellett, további hatóanyagokat három különböző koncentrációban - 3×10^{-3} M, $1,5 \times 10^{-3}$ M, $7,5 \times 10^{-4}$ M - táptalaj hígításos módszerrel vizsgáltuk, vagyis szélesebb koncentráció tartományban. (2. táblázat)

A 2. táblázatban az egyéb vegyületek (lásd Anyagok és Módszerek) közül, az előzetesen már vizsgált és bizonyos mértékig hatásosnak bizonyult 13 vegyülettel történt vizsgálatokat mutatjuk be a Klórpromazin mellett. Célunk az volt, hogy a hatóanyagok megfelelő koncentrációját keressük a Trichoderma gátlására vonatkozóan.

A Klórpromazin, az FC-203/B és az FC-2005 3×10^{-3} M-ban teljesen gátolták a penészgomba növekedését a malátás agaron. A korongon nem tapasztaltunk még hifafonal növekedést sem. Felező hígításokban már növekedési zónát tudtunk mérni, sőt a legkevesebb hatóanyagot tartalmazó hígításban szőnyegszerű micélium növekedést tapasztaltunk.

Ugyanezek a hatóanyagok az ehets gombákat (3×10^{-3} M koncentrációban) kisebb-nagyobb mértékben gátolták. A Klórpromazin a 3×10^{-3} M koncentrációban (v.ö. 1. táblázat) nem engedte szaporodni a laskát, de a shiitake ugyanezen hígítás mellett jól tudott növekedni a hatóanyagos táptalajon. A shiitakére az FC-203/B az FC-2005 hatóanyagok az alkalmazott legmagasabb koncentrációban (3×10^{-3} M) erős gátlást mutattak. Figyelemre méltó, hogy több hatóanyag (N 343, FC 1974/B, FC-1991, N 23, FC 1884, FC 1780) serkentette a laska növekedését.

Az FC-1947-es hatóanyag esetén teljes gátlást nem tapasztaltunk a Trichodermánál, 3×10^{-3} M koncentrációban 14 mm-es átmérőt, felező hígításokban pedig 16 és 31 mm-es növekedési zóna átmérőt mértünk. A magasabbrendű gombák esetében a hatóanyag gátló hatásáról nem is lehet beszélni, mivel olyan kicsi a mért átmérő különbsége a kontrollhoz képest.

2. táblázat: Szintetikus vegyületek hatása ehető gombákra és a Trichodermára

Hatóanyag	PLEUROTUS OSTREATUS			LENTINUSS EDODES			TRICHODERMA VIRIDE		
	3X10 ⁻³ H K	1,5X10 ⁻³ H K	7,5X10 ⁻⁴ H K	3X10 ⁻³ H K	1,5X10 ⁻³ H K	7,5X10 ⁻⁴ H K	3X10 ⁻³ H K	1,5X10 ⁻³ H K	7,5X10 ⁻⁴ H K
N-19	24 26	25 26	25 26	37 42	39 42	41 42	56 sz.	57 sz.	sz. sz.
FC-2006/C	19 26	25 26	23 26	+ 42	30 42	36 42	27 sz.	sz. sz.	sz. sz.
FC-2012	16 26	21 26	23 26	+ 42	15 42	19 42	15 sz.	37 sz.	47 sz.
N-343	27 26	28 26	30 26	33 42	30 42	35 42	57 sz.	sz. sz.	sz. sz.
FC-1947	25 26	26 26	22 26	37 42	41 42	41 42	14 sz.	16 sz.	31 sz.
FC-1780	25 26	35 26	36 26	40 42	38 42	38 42	sz. sz.	sz. sz.	sz. sz.
FC-1974/B	30 26	31 26	34 26	33 42	36 42	34 42	sz. sz.	sz. sz.	sz. sz.
FC-2004	26 26	26 26	29 26	+ 42	27 42	36 42	21 sz.	54 sz.	sz. sz.
FC-1992	27 26	32 26	37 26	+ 42	18 42	31 42	34 sz.	51 sz.	sz. sz.
FC-2005	20 26	26 26	28 26	- 42	21 42	29 42	- sz.	7 sz.	sz. sz.
FC-203/B	21 26	28 26	28 26	+ 42	21 42	25 42	- sz.	14 sz.	sz. sz.
N-23	40 26	35 26	35 26	38 42	38 42	40 42	sz. sz.	sz. sz.	sz. sz.
Klorpromazin	- 26	23 26	30 26	33 42	40 42	43 42	- sz.	4 sz.	27 sz.
FC-1884	40 26	38 26	34 26	35 42	39 42	41 42	45 sz.	sz. sz.	sz. sz.

Jelmagyarázat:

H : hatóanyagot tartalmazó táptalajon mért telep átmérő mm-ben

K: kontroll

- nincs növekedés

+ csak az inokulumon volt növekedés

sz. szőnyegszerű növekedés

Összefoglalva a 2. táblázat eredményeit a vizsgálati cél szempontjából 2 hatásos anyagot találunk, a Klórpromazint (ezt már az 1. táblázat is szemlélteti) és az FC-1947-et, mely az előzőnek szilíciumos származéka. Ezek a hatóanyagok potenciálisan számításba jöhetnek, mint *Trichoderma* ellenes vegyületek a laska és a shiitake termesztésénél. Természetesen további vizsgálatokat érdemelnek azok a vegyületek (hatásmechanizmusukat illetően), amelyek a laskára serkentő hatást fejtettek ki.

A Klórpromazin mellett gyógyszerári forgalomban kapható további 4 gyógyszer hatását is vizsgáltuk a már említett teszt-organizmusokra. A kísérletek eredményeit a 3. táblázat mutatja be.

A gyógyszerek gátlóanyagként való felhasználása $1,5 \times 10^{-3}$ M, $7,5 \times 10^{-4}$ M koncentrációban nem hozott értékelhető eredményt. Nagy növekedési zónákat mértünk a *Trichoderma* esetén, a legnagyobb hígítást pedig teljesen hatástalannak találtuk, a *Trichoderma* szőnyegszerűen benőtte a lemezt.

Csak az alkalmazott legnagyobb, 3×10^{-3} M-os koncentrációban bizonyultak a penészgomba ellen hatásosnak.

Az ehető gombákra a gyógyszerek kis gátló hatást mutattak. Csak a Teperin nevű anyag gátolta a laska gombát 3×10^{-3} M-ban annyira, hogy az agarkorongon mutatkozott csak szaporodást.

Lényegében nem találtunk *Trichoderma* ellen alkalmas vegyületet a gyógyszerek között. Bár a 3×10^{-3} M koncentráció a *Trichoderma* ellen hatásosnak bizonyult, de a kísérleti célban meghatározott követelményeknek nem felelt meg, mert kisebb-nagyobb mértékben az ehető gombákat is gátolta.

A kísérleteink során vizsgált több mint 60 potenciálisan fungicid vegyület közül a gombatermesztést veszélyeztető *Trichoderma* törzsek élettevékenységének gátlására, a Klórpromazin és ennek szilíciumos (FC-1947) származéka mutatkozik ígéretesnek olyan szempontból, hogy kisüzemi kísérletek megkezdését fontolóra vesszük.

A munkát az FM, KÉE ÉFK-nak juttatott K+F 5 támogatásával végeztük. A szerzők köszönettel tartoznak Imre Krisztina és Kovács Annamária technológus élelmiszeripari mérnököknek a kísérletekben való részvételért.

3. táblázat: Gyógyszerek vizsgálata ehető gombákra és a trichodermára

Hatóanyag	PLEUROTUS OSTREATUS			LENTINUSS EDODES			TRICHODERMA VIRIDE		
	3×10^{-3} H K	$1,5 \times 10^{-3}$ H K	$7,5 \times 10^{-4}$ H K	3×10^{-3} H K	$1,5 \times 10^{-3}$ H K	$7,5 \times 10^{-4}$ H K	3×10^{-3} H K	$1,5 \times 10^{-3}$ H K	$7,5 \times 10^{-4}$ H K
Melipramin	20 60	22 60	34 60	20 46	34 46	41 46	- sz.	53 sz.	sz. sz.
d-Tisarcin	36 60	58 60	58 60	30 46	45 46	52 46	- sz.	sz. sz.	sz. sz.
Teperin	+ 60	23 60	28 60	18 46	43 46	44 46	- sz.	40 sz.	sz. sz.
Pipolphen	35 60	38 60	38 60	16 46	43 46	43 46	- sz.	sz. sz.	sz. sz.

Jelmagyarázat:

H : hatóanyagot tartalmazó táptalajon mért telep átmérő mm-ben

K: kontroll

- nincs növekedés

+ csak az inokulumon volt növekedés

sz. szőnyegszerű növekedés

SCREENING CHEMICAL COMPOUNDS AGAINST TRICHODERMA STRAINS

L. FEHÉR J. MOLNÁR S. FÖLDEÁK K. CSECSI J. BUCSI
I. BEREK

University of Horticulture and Food Industry
College of Food Industry
H-6701. Szeged, P.O.Box 433.

ABSTRACT

*The negative changes in the climate of East Europe and Hungary put forward the importance of experiments aiming of the multiplication of cultivated mushrooms. Production of mushrooms having been cultivated so far can be increased by breeding defeating damaging infections. The most serious problem is the green mould (*Trichoderma viride*) which may result as high as 80 % damage in mushroom production. Against *Trichoderma* Fundasol WP sprinkling chemical is used, which gets accumulated in the fruit bodies so damaging human health. That is why we started screening potential fungicides effective agains *Trichoderma* strains, which don't inhibit the life activity of cultivated mushrooms and don't threaten human health either. More than 60 chamental compounds of different structures have been screened, two of which have deserved further investigation (chlorpromazine and its siliciumderivate). These compound inhibit the development of *Trichoderma* in the concentration of 10^{-3} M, while they had no inhibiting effect on the test organisms - *Pleurotus*, Shiitake mushrooms. Since chlorpormazine is a human medicine still on commentional sale, hope seems to be rising, that in order to combat the harmful effect of *Trichoderma* is might probably be used in case of *Pleurotus* and Shiitakee mushrooms.*