

SZAKMAI ISMERTETŐ

Trichoderma készítmények alkalmazása

a szőlő metszési sebeinek védelmére



Az innovatív tudástranszfert és információcserét szolgáló nemzetközi hálózat
létrehozása az európai bortermelő vidékek között

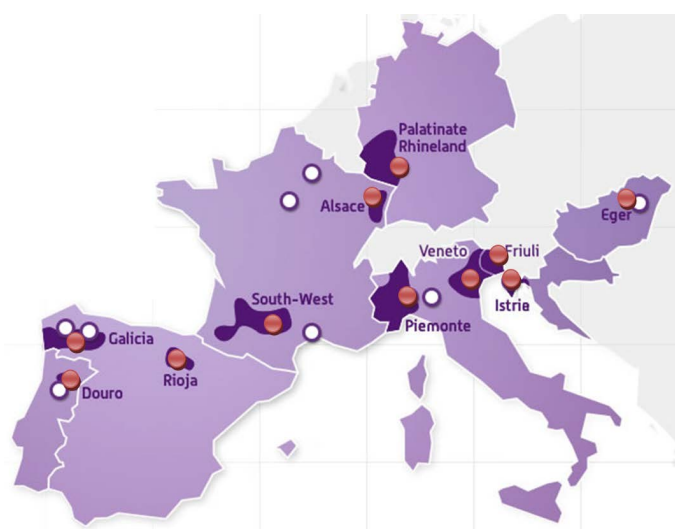


A projekt az Európai Unió Horizon 2020 kutatási és innovációs keretprogramjának finanszírozásában, a 652601 számú támogatási szerződés keretében valósul meg.

Trichoderma alkalmazása

Bevezetés

A szőlő tőkebetegségek (Grapevine Trunk Diseases, GTDs) jelentősen csökkentik az ültetvények termőképességét és élettartalmát a legtöbb szőlőtermesztő vidéken világszerte. A szőlő tőkebetegségei **a szőlő fás részeit támadják meg**, beleértve a törzset, a kordonkart és a csapokat (Baumgartner, 2013). A betegséget kiváltó kórokozó gombák – **egy sor rendszertanilag nem rokonságban álló kórokozó** – képesek a szőlőt főként **a metszési sebekben keresztül megfertőzni**, ezek a sebek és sérülések hónapokon keresztül fogékonyak maradnak a fertőzésre. Fontos megjegyezni, hogy nem állnak rendelkezésre olyan eljárások, melyekkel a fertőzött tőke gyógyítható lenne; az egyetlen mód, ha **megelőzzük vagy korlátozzuk a tőkebetegségek fertőzését különböző termesztési gyakorlatok együttes alkalmazásával**. A szőlő tőkebetegségek kezelésének az egyik **alternatív módja** a metszési sebek és sérülések befertőződésének megakadályozása **biokontroll ágensek** alkalmazásával. A **Trichoderma nemzetség fajait** (a tömlősgombák osztályának képviselői, melyek a talajban természetes körülmények között jelen vannak) számos esetben vizsgálták, mint potenciális biokontroll ágenseket, az élettérért és a táplálékért folytatott kompetíciós képességük miatt.



1. ábra: Piros pont jelöli azokat az európai szőlőtermesztő régiókat/borvidégeket, ahol alkalmaznak Trichoderma-alapú készítményeket (a Winetwork projekt során készített interjúk alapján). A fehér pontok a projekt partnereit jelölik.

Alkalmazási terület

A Trichoderma-alapú készítmények felhasználása a metszési sebek védelmére nagy népszerűségnek örvend Európában, ugyanis számos szőlőtermesztő alkalmazza ezt az eljárást.

Gyakorlati alkalmazása

A Trichoderma spp. különböző törzsei **képesek a metszési sebeket 1-2 cm vastagságban kolonizálni** ezzel **megakadályozva** a szőlő tőkebetegségeikért felelős **kórokozó gombák bejutását a fás részekbe**. A metszési sebek Trichoderma fajokkal való kolonizálása nagyban függ a szőlő **fiziológiai állapotától** illetve a metszéskor uralkodó **időjárási viszonyoktól**. A metszési időszak egybeesik a kórokozók spóraszóródásával, melyek rendszerint a fertőzött fás részekről származnak. A **metszési sebek és sérülések hosszú távon fogékonyak a fertőzésre** (akár 4 hónapig vagy annál is tovább), de **a fertőzésre a legkritikusabb időszak a metszést követő 2-8 hét** (Eskalen et al. 2007, Van Niekerk et al. 2011b).

1- A kezelés időzítése

Általában a Trichoderma fajokat nem korlátozzák az éghajlati viszonyok, már 10°C-on képesek megkezdeni a sebek kolonizálását, de a kezelés időzítése javíthatja a hatékonyságot, ezáltal a védekezőképességet. A kezelés optimális ideje 0°C feletti hőmérsékleten van, bár néhány faj magasabb hőmérsékletet igényel (10°C körüli). Fontos kiemelni, hogy a Trichoderma fajok, mint biokontroll ágensek érzékenyek a fagyra. A hőmérsékleten felül a kezelés végrehajtásának legjobb időzítése a **metszést követően a lehető leghamarabb** annak érdekében, hogy csökkentsük azt az időszakit, mikor a sebek és sérülések védtelenek a fertőzéssel szemben. Különböző tanulmányok vizsgálták, hogy a metszés követő 5-6 órán belüli kezelések hatékonyabb kolonizálást eredményeznek (Harvey et al., 2006, Mutawila et al., 2016).

A különböző Trichoderma-alapú készítmények kijuttatását kifejezetten a könnyezés idejére ajánlják, ugyanis a nedvkeeringés beindulása lehetővé teszi az antagonista gomba gyorsabb megtelepedését a sebekben. Ugyanakkor fontos figyelni

az időjárás-előrejelzést a kijuttatást megelőzően, mert a **heves esőzések** megakadályozhatják a betelepedést azzal, hogy **lemossák a spórákat a sebekről**.

A témával foglalkozó kutatók a szaporítóanyag előállítás során ajánlják egyrészt az oltványok *Trichoderma* spp.-vel való kezelését oltványiskolákban, másrészt a kiültetést követő második vagy harmadik évben a kezelés megismétlését. Attól fogva erősen ajánlott a kezelés **megismétlése minden évben** (Sosnowski, 2016). Mind a kisebb, mind a nagyobb felületű sebeket célszerű kezelni a biokontroll ágenssel akár permetezéssel, akár ecseteléssel, a pénzügyi lehetőségekhez mérten, illetve az ültetvény értékéből adódóan.

2- A kezelés módja

A **metszési sebek kezelését** az első metszést követően már az **1 éves ültetvényekben** célszerű elkezdni és azt minden évben megismételni (Sosnowski, 2016). Mind a kisebb, mind a nagyobb felületű sebeket célszerű kezelni a biokontroll ágenssel, kijuttatás során pedig fontos a permetező gép fúvókáit a kordonkar felé irányítani (Sosnowski, 2016). A kijuttatás során **a sebek maximális fedettsége érhető el** a ventilátorok kikapcsolásával, magas lémenynység és alacsony nyomás alkalmazásával, **nagy cseppméretet képző fúvókák választásával**, illetve a fúvókák a metszési sebek zónája felé történő irányításával.

Különböző típusú permetező gépeket felhasználva vizsgálták az eltérő lémenynységeket csapos- és szálvesszős metszésmódú ültetvényekben. A vizsgálat eredményei alapján rendkívül fontos megfelelő minőségű permetező gépet választani, kellő lémenynységgel, a maximális fedettség biztosítása érdekében. A permetezés előkészítésénél fokozottan ajánlott **a permetező tartály alapos tisztítása** annak érdekében, hogy a korábbi gombaölő szer/fungicid maradványok ne „kapcsolják ki” a *Trichoderma* hatását. Az egyik legnagyobb akadály a *Trichoderma* használatával kapcsolatban, annak változó hatékonysága, melyet a természetők figyeltek meg. A *Trichoderma*-alapú termékek biokontroll ágensként való hatékonyságát számos tényező befolyásolhatja úgy, mint a felhasznált *Trichoderma* faj vagy törzs, a kijuttatás módja, a szőlő fenológiai állapota, a metszés és a *Trichoderma* kezelés között eltelt idő, az antagonista gomba és a tápnövény interakciója, nem utolsósorban a környezeti tényezők (Di Marco et al., 2004.). Ezen felül a biokontroll aktivitás fajtánként változhat (Mutawila et al. 2011a). Ha ezeket a tényezőket, ha nem kezeljük megfelelően, vagy ha nem veszünk róla tudomást, akkor az sikertelen eredményekhez vezethet. Mindenesetre nem szabad összehasonlítani a *Trichoderma* kezeléseket a gombaölő szeres permetezésekkel. A készítmények háti permetezővel is kijutathatóak, ez esetben is fontos a permetlevet célzottan a metszési sebek felületére juttatni illetve biztosítani az optimális fedettséget (2. ábra).

Eredmények

A metszési sebek kezelésére Európa szerte számos *Trichoderma* fajt és törzset használnak: a *Trichoderma atroviride* SC1 és I1237 törzsét, *Trichoderma asperellum* ICC012 törzsét és a *Trichoderma gamsii* ICC 080 törzsét.

- *Trichoderma atroviride* SC1 törzset elhalt mogyoró fás részéből izolálták. Magas kolonizációs képessége és a lítikus (bontó) enzimek (kitináz, proteáz, celluláz) fokozott termelése miatt választották ki. A *Trichoderma atroviride* SC1 törzsének kiváló a kompetíciós képessége, emellett hatékony antagonistája a *Phaeoacremonium minimum* és a *Phaeomoniella chlamydospora* kórokozó gombáknak, vagyis képes az esca betegséget kiváltó kórokozók éves fertőzését csökkenteni (D'Enjoy et al., 2016.).
- *Trichoderma atroviride* I1237 törzse képes a metszési sebek gyors kolonizálására, verseng az élettérért és a táplálékért a kórokozó gombákkal, emellett antibiózis és mikoparazitizmus tulajdonságai miatt. (Antibiózis: a szimbiózis ellentéte, az egyik élő szervezet gátolja a másik életjelenségeit, sőt esetleg el is pusztítja, Mikoparazitizmus: az antagonista gomba hifája rátekeredik a növénypatogén gomba hifájára, és sejtfaloldó enzimekkel parazitálja azt)
- *Trichoderma asperellum* és a *Trichoderma gamsii* ICC 080 törzse hatással lehet a szőlő tőkebetegségeket kiváltó kórokozókra (főként a *Phaeomoniella chlamydospora* gombára) 10°C és 15°C-on. A fent említett mindkét faj 5°C-on is életképes marad.

A jövőbeni gyakorlati ajánlások megfogalmazásához szükséges további szabadföldi kísérletek megvalósítása, melyek **megerősítik a hatékonyságukat eltérő kísérleti feltételek mellett**.

A *Trichoderma* spp. kezeléseken alapuló védekezés hatékonysága nagyban függ az említett gombafajok kolonizációs képességétől a szőlő metszési sebein (John et al., 2008). A metszési sebek teljes kolonizálásához a *Trichoderma* fajoknak általában időre van szüksége, ez alatt a sebek és sérülések védtelenek a szőlő tőkebetegség kórokozóinak fertőzésével, továbbá a heves esőzésekkel szemben. Azonban további szabadföldi vizsgálatokat igényel, illetve szükséges a rövid illetve hosszú távú hatékonyságuk igazolása, emellett annak meghatározása, hogy miképp lehetne összehangolni a többi kezelési stratégiával (egyéb biológiai és kémiai készítményekkel való kombinációval, a „törzstisztítással”, a metszési sebek méretének és számának csökkentésével, növény-egészségügyi eljárások alkalmazásával) (Bertsch et al., 2013).

Trichoderma alkalmazása

Néhány tudományos eredmény

A szőlő tőkebetegségek kezelésének egyik módja a metszési sebek kémiai (fungicid) védelme, mely több szempontból is aggályos lehet: egyrészt korlátozott számban érhetőek el engedélyezett készítmények (nem minden európai országban van engedélyezett készítmény); másrészt ezeknek a készítményeknek egy sor rendszertanilag nem rokonságban álló kórokozó ellen kellene egyaránt hatékonynak lennie; harmadrészt az említett gombaölő szereknek hosszú távon kellene biztosítani a sebek védelmét (több hónapon keresztül); végül a készítmények kijuttatásának nehézsége és az ezzel járó kézi kijuttatás költsége sem elhanyagolható (Rolshausen et al., 2010).

A kémiai és biológiai védekezések integrációja hatékonyabb védelmet biztosíthatna a metszési sebekben, viszont az együttes alkalmazás korlátozott, mivel a biokontroll ágensek érzékenyek a gombaölő szerekre. A szőlő tőkebetegségek szabadföldi kezelésének legfőbb módja a kórokozók metszési sebekben keresztüli bejutásának megakadályozása. A metszési sebek kezelésére szolgáló készítményeknek hatékonynak kellene lenniük a tőkebetegségeket kiváltó egy sor kórokozó ellen, miközben a sebek érzékenységének teljes ideje alatt meg kellene védeni a sebeket a fertőzéstől. Általában a metszési sebek kezelésének célja a micélium-növekedés megakadályozása a sebekben és/vagy a sebek fizikai lezárása a fertőzések megakadályozására (Newsome, 2012.). A Trichoderma gombafajok jól ismertek antagonista aktivitásukról és a mikroorganizmusokkal szemben mutatott hiper-parazitizmusukról, illetve számos betegség ellen alkalmazott biokontroll ágens mivoltukról. Habár a hatásmechanizmusuk nem teljesen tisztázott úgy tűnik, hogy a mikoparazitizmus van összefüggésben, emellett gátló/inhibitor anyagokat termelnek, kompetíciós képességet mutatnak az élettérért és a táplálékért, stimulálják a növény növekedését és fokozzák a tápnövények ellenállóságát (Di Marco et al., 2004). A 2000-es évek óta számos vizsgálatot végeztek annak érdekében, hogy értékeljék a Trichoderma fajok hatékonyságát a szőlő tőkebetegségeket kiváltó kórokozókra (1. táblázat). A vizsgálatok eredményei egyöntetűen azt mutatták, hogy a Trichoderma fajok az adott értékelési módszer alapján részleges hatékonysággal rendelkeznek a főbb szőlő tőkebetegségek kórokozóival szemben, mind a metszési sebek szabadföldi kezelésének, mind az oltványiskolában az oltványok



2. ábra: A metszési sebek kezelése Trichoderma-alapú készítményekkel egy Esca-val fertőzött ültetvényben (Eszterházy Károly Egyetem, Burghardt N.)

kezelésének tekintetében, az új fertőzések elkerülésében. Továbbá a széles hatásspektrumának köszönhetően, a *Trichoderma* fajok általánosságban képesek késleltetni a szőlő tőkebetegséget kiváltó egy sor kórokozó fertőzését, ezen felül képesek életben maradni akár egy évig is a sebek és sérülések alatti szövetekben.

Egy „élő szervezetről” lévén szó, hatékonyságát nagyban befolyásolják a környezeti tényezők. Különösképp a *Trichoderma* fajok metszési sebekben való megtelepedésének képessége és fennmaradása nagyban függhet az adott sebek sajátos tényezőitől, emellett eltérések lehetnek fajták között is, nem beszélve a szőlő fiziológiai állapotáról, melyet az adott *Trichoderma*-alapú készítménnyel kezelnek (Bruez et al, 2014; Di Marco, 2007).

Ráadásul a *Trichoderma* fajok metszési sebekre gyakorolt hatása szintén függ a szőlőnövénnyel való kölcsönhatásától, ugyanis ez nem csak a *Trichoderma* közvetlenül a kórokozókat elnyomó hatásából adódik, ahogy azt néhány kutató megállapította (Mutawila et al, 2011). Egy újabb tanulmányban (Aloi et al., 2014) azt találták, hogy a *Trichoderma* gam-sii és a *Trichoderma asperellum* metszési sebekben alkalmazva képes az Esca tünetek előfordulásának csökkentésére.



3. ábra: *Trichoderma atroviride* SC1 törzse (DLR Rheinfalz)

A siker kulcsa

A *Trichoderma* fajoknak preventív hatása van a szőlő tőkebetegségeket kiváltó kórokozók fertőzésére, ennek a hatásnak a kihasználásához számos feltételt célszerű szem előtt tartani:

- A *Trichoderma*-alapú készítményeket **a metszést követően a lehető leghamarabb** szükséges elvégezni
- A kezelések akár permetezéssel (permetező géppel vagy hálós permetezővel), akár ecseteléssel is kivitelezhetők
- Fontos figyelembe venni az **adott *Trichoderma* törzs sajátosságait** (kijuttatás alatti hőmérséklet) és lehetőleg a készítményt száraz időjárási körülmények között, a heves esőzéseket elkerülve célszerű kijuttatni
- A fertőzések megelőzése érdekében a *Trichoderma* kezeléseket az telepítést követő első évben és ezt követően **minden metszési időszakban** ajánlott elvégezni



4. ábra: *Trichoderma* fajok (DLR Rheinfalz)

Botrioszfériás elhalás	Eutipás elhalás	Esca komplex
<i>T. harzianum</i> , <i>T. atroviride</i> , és benzimidazol-rezisztens törzs TESZTELVE: metszési sebek védelmére	<i>Trichoderma</i> spp <i>T. harzianum</i> , <i>T. atroviride</i> , benzimidazol-rezisztens törzs TESZTELVE: a metszési sebek védelmére, az eutipás elhalás toxikus metabolitjainak lebontásában mutatott aktivitására	<i>Trichoderma</i> spp <i>T. harzianum</i> , <i>T. atroviride</i> , <i>T. longibrachiatum</i> és benzimidazol-rezisztens törzs TESZTELVE: metszési sebek védelmére
<i>Bacillus subtilis</i> EE izolátum TESZTELVE: metszési sebek védelmére	<i>Bacillus subtilis</i> EE izolátum TESZTELVE: metszési sebek védelmére	<i>Bacillus subtilis</i> EE izolátum TESZTELVE: metszési sebek védelmére

1. táblázat: Különböző biokontroll ágensek alkalmazása a szőlő tőkebetegségeivel szemben (Esca, botrioszfériás és eutipás elhalás)

Irodalomjegyzék

Aloi C., G. Bigot G., P.P. Bortolotti P.P., M. Cotromino M., S. Di Marco S., F. Faccini F., A. Montermini A., L. Mugnai L., R. Nanini R., F. Osti F., F. Reggiori F., 2014. Remedier® (Trichoderma Asperellum e Trichoderma Gamsii): nuova opportunità di contenimento del complesso del mal dell'Esca della vite. Risultati di quattro anni di sperimentazione in Italia. Atti Giornate Fitopatologiche. (2014), 2, 363-372

Baumgratner K. Development of early-detection technologies for trunk diseases of grape. (2013) OECD Theme 2. Sustainability in Practice.

Bertsch C., M. Ramírez-Suero, M. Magnin-Robert, P. Larignon, J. Chong, E. Abou-Mansour, A. Spagnolo, C. Clément and F. Fontaine Grapevine trunk diseases: complex and still poorly understood (review) Plant Pathology (2013) 62, 243–265.

D'Enjoy G., Nesler A., Frati S., Trichoderma atroviridae SC1 is a tool for life-long protection of grape against trunk diseases Natural Products & Biocontrol (2016)

Di Marco S., F. Osti, A. Cesari Experiments on the control of esca by Trichoderma Phytopathol. Mediterr. (2004) 43, 108–115

Eskalen A., A.J. Feliciano, and W.D. Gubler. Susceptibility of grapevine pruning wounds and symptom development in response to infection by Phaeoacremonium aleophilum and Phaeomoniella chlamydospora (2007) Plant Dis. 91:1100-1104

Harvey I.C., J.S. Hunt Penetration of Trichoderma harzianum into grapevine wood from treated pruning wounds, New Zealand Plant Protection(2006) 59:343-347

John S., Wicks TJ, Hunt JS, Scott ES, Colonisation of grapevine wood by Trichoderma harzianum and Eutypa lata. Australian Journal of Grape and Wine Research (2008) 14, 18–24.

Larignon P. La constitution d'un groupe international de travail sur les maladies du bois et les premiers résultats des expérimentations menées par l'ITV en laboratoire et en pépinières Les Maladies du Bois en Midi-Pyrénées. (2004) 24-27.

Longa C.M.O., Pertot I., Tosi S. Ecophysiological requirements and survival of a Trichoderma atroviride isolate with biocontrol potential. J Basic Microbiol (2008) 48:269–277

Mondello V. BCAs used to control GTDs (Esca, Botryosphaeria and Eutypa dieback) Winetwork project SWG meeting minutes (2016)

Mugnai L. What preventative measures could growers take to prevent the entry of GTD agents into a vineyard? –Presentation at Wineskills Masterclass on Grapevine Trunk Disease (2012)

Mutawila C., F. Halleen, L. Mostert Development of benzimidazole resistant Trichoderma strains for the integration of chemical and biocontrol methods of grapevine pruning wound protection BioControl (2015) 60:387-399

Mutawila C., F. Halleen, L. Mostert Optimisation of time of application of Trichoderma biocontrol agents for protection of grapevine pruning wounds Australian Journal of Grape and Wine Research 22, (2016) 279–287

Mutawila C., P.H. Fourie, F. Halleen, L. Mostert Grapevine cultivar variation to pruning wound protection by Trichoderma species against trunk pathogens Phytopathol. Mediterr. (2011) 50 (Supplement), S264–S276

Newsome J. Grapevine Trunk Disease, A review (2012)

Rolshausen P. E., J. R. Urbez-Torres, S. Rooney-Latham, A. Eskalen, R. J. Smith, W. D. Gubler Evaluation of pruning wound susceptibility and protection against fungi associated with grapevine trunk diseases Am. J. Enol. Vitic. (2010) 61:1

Sosnowski M., D. Mundy, P. Vanga, M. Ayres Practical management of grapevine trunk diseases NZ wine project outcome (2016)

Van Niekerk J., W. Bester, F. Halleen, P. Crous, and P. Fourie, The distribution and symptomatology of grapevine trunk disease pathogens are influenced by climate. Phytopathologia Mediterranea 50 (4) (2011), 98–111

Forscher testen Mittel gegen «Rebenkiller»-Pilz Esca

G. E. Harman, Cornell University, Geneva, NY 14456 <https://biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/trichoderma.php>

Tudásbázis:

winetwork.uni-eszterhazy.hu



A WINETWORK projekt ügyvivő szakértőinek közös munkája. A felhasznált adatok forrása a szőlőtermesztők körében készített 219 interjú és a vonatkozó szakirodalom.

Ezúton nyilvánítjuk ki köszönetünket Dr. Vincenzo Mondello részére, a technikai adatlap kidolgozásában nyújtott segítségéért.