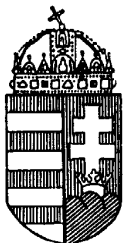


(19) Országkód:

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

202 064 B

(22) Bejelentés napja: 1988.02.03.

(21) 506/88

(33) CA

(32) 1987.02.03.

(31) 528.909

(83) Deponálási irat:

CMI cc 312959 Ikt.sz.:30921/90

(51) Int Cl⁵

A 01 N 65/00

(41) (42) Közzététel napja: 1989.05.29.

(45) Megadás meghirdetésének dátuma

a Szabadalmi Közlönyben: 1991.02.28. SZKV/1991/02.

(72) Feltalálók:

Watson Alan K., Pincourt, Quebec,
Reeleder Richard D., Montreal, Quebec (CA)
Ormeno-Nunez Juan, Santiago, Quebec (CL)

(73) Szabadalmaz:

The Royal Institution for the Advancement of
Learning (McGill University), Ste. Anne de
Bellevue, Quebec (CA)

(54) ELJÁRÁS GYOMIRTÁSRA, PHOMOPSIS CONVULVULUS GOMBA SPÓRATENYÉSZET ALKALMAZÁSÁVAL ÉS A GOMBATENYÉSZET ELŐÁLLÍTÁSÁRA

(57) KIVONAT

A találmány szerinti gyomirtó eljárást úgy végzik, hogy a növényre vagy a növény előfordulási helyére legalább $1 \cdot 10^6$ spóra/ml koncentrációjú *Phomopsis convolvulus* gomba spóratenyészetet juttatnak ki a növények teljes nedvesítéséig.

A találmányszerinti eljárással a gombatenyészetet úgy állítják elő, hogy *Phomopsis convolvulus* IMI 312.959 mikroorganizmust megfelelő táptalajon tenyésztenek.

A leírás terjedelme: 8 oldal, ábra nélkül

HU 202 064 B

Találmányunk gomba spóratenyészet alkalmazásával megvalósított biológiai gyomirtó eljárásra vonatkozik.

A mezei szulák (*Convolvulus arvensis* L.) olyan, a földön szétterülő vagy szétfutó, évelő gyomnövény, amely a növénytermesztés egyik legnagyobb problémáját okozza, különösen Európa mérsékelt éghajlatú területein, Dél-Amerikában, Dél-Afrikában, Nyugat- és Délkelet-Ázsiában, Ausztráliában és a Csendesóceáni Szigeteken. Nagyon elterjedt Észak-Amerikában, az Amerikai Egyesült Államok 45 államában, valamint Újfundland és a Prince Edward Szigetek kivételével, Kanada egész területén.

A mezei szulák csökkentik a terméshozamot, és a kúszó módon történő növekedése megnehezíti a betakarítást. Ez az évelő gyomnövény a földön kúszik, szétterül, az óramutató járásával ellentétes irányban rácsavarodik más növények szárára vagy önmagára. A növény különböző, sima, hosszúka, nyíl vagy tojás alakú rövid nyelű levelei 5 cm hosszúra is megnőnek. Virágai általában különállóak, tengelyirányban nőnek, a színük rózsaszín vagy fehér, a virág tölcser alakú pártája 3,5 cm hosszú és 2 cm átmérőjű is lehet. A növény bőséges magtermése két kamrájú kapszulákban képződik, mindegyik kapszulában 1–4 mag helyezkedik el, a magok formája tojásdadtól gyöngy alakig változik. A magok 50 évig is rejtőzködhetnek a talajban. A meghonosodott mezei szulák jól kiterjedt gyökerei egy központi, erőteljes, a talajban akár 7 m mélyre is lenövő gyökérből erednek. A központi gyökérből rengeteg, kötélszerű, oldalirányban elágazó gyökér nő ki. A mezei szulák elterjedésének és évelő voltának a legfőbb oka a gyökérrendszeren lévő nagyszámú vegetatív gyökérhajtás.

A mezei szulák rendkívüli módon ellenálló, és nagyon nehéz ellene a védekezés. Bizonyos mértékű védekezés az ismételt megműveléssel érhető el. Ez az eljárás azonban rendkívül munkaigényes, költséges és a legtöbb termesztési rendszerben nem alkalmazható. Kémiai gyomirtószereket is alkalmaznak a mezei szulák ellen, például legelőkön szelektív gyomirtószerként a glifozát [(N-foszfonometil)-glicin]. Azonban jól ismert a kémiai gyomirtószerek számos káros hatása, például a haszonnövény károsítása, az ilyen szerekre érzékeny növényekre való áttérjedése, valamint az egyéb élőszervezetek nem kívánt mérgezése.

Évelő növényekre káros gyomnövények gomba kártevőkkel megvalósított gyomirtó eljárását már eddig ismertették a szakirodalomban, ilyen gomba kártevők például a *Colletotrichum* gombafajták (3.849.104. számú és 3.999.973. számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás), a *Fuzárium* gombafajták (4.419.120. számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás), valamint az *Alternaria* gombafajták (4.390.360. számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás), azonban nem ismertek olyan adatok, amelyek szerint a mezei szulák gyomirtására gomba kártevőt alkalmaztak volna.

Ezért találmányunk célkitűzése a mezőgazdasági haszonnövényeket károsító mezei szulák biológiai gyomirtó eljárásának kimunkálása.

Ezen túlmenően további célkitűzésünk az volt, hogy a mezei szulák gyomirtására alkalmas, bioló-

giailag tiszta gomba mikroorganizmus tenyészetet állítsunk elő.

Munkánk eredményeként olyan eljárást találtunk, amely mezőgazdasági haszonnövényeket károsító mezei szulák gyomirtására alkalmas. A találmányunk szerinti eljárás során a növényre vagy a növény előfordulási helyére legalább 1.10^6 spóra/ml koncentrációjú *Phomopsis convolvulus* gomba spóratenyészetet juttattunk ki a növények teljes nedvesítéséig. A fertőzés hatására a gyomnövény elpusztul vagy növekedése visszaszorul.

A találmányunk szerinti eljárással a mezei szulák gyomirtását a haszonnövény károsítása nélkül valósítjuk meg. A *Phomopsis convolvulus* Ormeno gombák spóratenyészetét a fertőzött mezei szulák levelein foltosságot és szemcsés károsodást idéz elő, ennek eredményeként a növény elpusztul vagy növekedése visszaszorul.

A találmányunk szerinti eljárásban alkalmazott *Phomopsis convolvulus* Ormeno új gomba kártevő, és az első olyan gomba kártevő, amely a mezei szulák gyomirtására alkalmas.

A gomba letétbe helyezése a quebec állami Ste-Anne-de-Bellevueben a Macdonald College of McGill University Department of Plant Science-ben; az ontario állambeli Ottawában az Agriculture Canada Biosystematics Research Institute-ban DA-OM 196873. számon, valamint az angliai Kewben a Commonwealth Mycological Institute-ban IMI 312959. számon történt.

A találmányunk szerinti eljárásban előnyösen az IMI 312959. számú *Phomopsis convolvulus* gomba spóratenyészetét alkalmazzuk.

A gombák kiszemelése a mezőgazdaságban elfogadható hordozóanyagokkal történhet, és ezeket a gomba készítményeket levél permetezőszer, nedvesíthető por vagy granulátum formájában alkalmazhatjuk.

A találmányunk szerinti eljárásban alkalmazott *Phomopsis convolvulus* Ormeno, ahogyan már korábban bemutattuk, új és az első olyan gomba kártevő, amely a mezei szulák gyomirtására alkalmas.

A találmányunk tárgya továbbá eljárás a *Phomopsis convolvulus* IMI 312959 gombatenyészet előállítására.

Az eljárás során *Phomopsis convolvulus* IMI 312959 mikroorganizmust megfelelő táptalajon tenyésztünk.

A *Phomopsis convolvulus* IMI 312959-t különleges formákban mint például fagyasztva szárított, szilárd vagy folyékony hígítót tartalmazó készítményben vagy asszimilálható szet, nitrogénforrást, szükség esetén vitaminokat és szervesanyagokat tartalmazó táptenyészetben tenyészet formájában és/vagy lényegében más mikroorganizmust nem tartalmazó formában állíthatjuk elő.

A találmányunk szerinti gyomirtó eljárás során a *Phomopsis convolvulus* gomba spóratenyészetet hatásos, a haszonnövényt nem károsító mennyiségben alkalmazzuk a mezei szulák előfordulási helyére. A mezei szulák *Phomopsis convolvulus*szal való érintkezésére bármilyen eljárást alkalmazhatunk. Az érintkezés valamilyen megfelelő eljárással és a fertőzés kialakulásához elegendő ideig történik.

Azt tapasztaltuk, hogy a gombaspórákat legalább

12 órán át megfelelő mennyiségű nedvességet tartalmazó környezetben kell tartani a spórák kifejlődésének megindulásához, illetve ezt követően a növények fertőzésének kialakulásához.

Kikelés előtti vagy kikelés utáni alkalmazásra granulátum formájú készítmények használhatók. A levélzet károsító granulátum készítmények kikelés előtti alkalmazását megnehezítik a talajban élő egyéb organizmusok. Ezért a kikelés előtt alkalmazott, gyomirtó gomba készítmények hatékonyságát nagymértékben meghatározza a készítmény előállítási eljárása.

A gombák alkalmazása előnyösen levél permetezés formájában történik.

A találmány szerinti eljárásban alkalmazott mikroorganizmusokat a következőkben ismertetésre kerülő eljárással tenyésztjük. A gomba tenyésztés hatásának elősegítésére, kezelésének, tárolásának és alkalmazásának megkönnyítésére a tenyésztet ki-szerelése előnyösen olyan készítmény formájában történik, amely ismert hordozó- vagy hígítóanyagot és előnyösen felületaktív anyagot és adott esetben egyéb adalékanyagot tartalmaz. Ezek az adalékanyagok elősegítik a készítmény növényhez tapadását, esőállóságát vagy megakadályozzák például a napfény hatására bekövetkező bomlását. Az ilyen készítmények alkalmazása a hagyományos eljárásokkal történik például úgy, hogy a növényeket be-permetezzük vagy a talajt kezeljük a növény tényleges vagy várható előfordulási helyén.

A találmányunk szerinti eljárásban alkalmazott, találmányunk szerinti növényvédőszer készítmények tehát készülhetnek úgy, hogy a gombatenyésztet valamilyen folyadékkal, paszta vagy gélyszerű anyaggal vagy inert szilárd granulátummal vagy szemcsés hordozóanyaggal társítjuk. A növények levélzetére való alkalmazásnál különösen előnyös a permetezés előtt vízzel hígított, nedvesíthető por vagy vizes szuszpenziók használata. A készítmények tartalmazhatnak emulgeálószeret, szuszpendálószereket és életképes tenyésztet alkalmazása esetén a mikroorganizmusok életképességének fenntartására megfelelő tápanyagokat is.

A *Phomopsis convolulus* Ormeno telepek morfológiai jellemzőit a következőkben ismertetjük.

A pelyhes burgonya dextróz agarban tenyésztett *Phomopsis convolulus* telepek sűrű, bensejű, fehér micéliumból állnak, a tenyésztet alsó oldala színtelen, kis egyedi, párnaszerű szövetekből áll. A konidiomata formája piknidikus, elkülönült, bemélyítve kiemelkedik, alakja a gömb formától félgömb formáig terjed, felépítése lapos, egy vagy több rekeszes. A textura angularis átmérője 300 µm-ig terjed, egy vagy több pórusból áll, a pórusnyílás szélessége 50 µm-ig terjed. A piknidikus fal több, világosbarna, oldalról összenyomott sejtrétegből áll, amely a pórusok körül erőteljesen elszíneződik és meszesedik. A konidiogén sejtek átlátszóak, egyszerűek, fialidikusak, hosszúságuk 5 µm-ig terjed, közvetlenül a piknidikus üreg sejtburkolat legbelső rétegéből vagy az 1-válaszfalú konidioforákból emelkednek ki. Az alfa-konidia átlátszó, hosszukástól orsóellipszoidig terjedő formájú, a két végén többnyire két, nagy csepp formában végződik, ritkábban három csepp formát vesz fel, a közepén néha enyhén összeszűkül,

hosszúsága (10)11–12(15) µm; szélessége 3–4(5) µm; hosszúságának és szélességének aránya 2,5–3,0. A béta konidia páfrány formájú, a kúpos vég gyakran horgas, ritkán egyenes alakú; csak tenyésztben fordul elő; hosszúsága 17–33 µm; szélessége 0,5–1,5 µm.

A következő kísérletekben alkalmazott *Phomopsis convolulus* IMI 312959 gombákat fertőzött mezei szulák sérült leveleiről gyűjtöttük a quebec állambeli Ste-Anne-de-Bellevue környékén. A fertőzött levélszövet 1 cm²-es darabjait felszeleteljük, és felületüket 5 percen át sterilizáltuk. A sterilizálásra 1 térfogat%-os hipoklorit oldatot használtunk. A sterilizált levéldarabokat steril vízzel leöblítettük, és 5 percen át steril papíron szárítottuk, majd maláta agar extraktumot (MEA) tartalmazó petri csészékbe tettük, és pH-ját 88 tömeg%-os laktonsavval 4,8-re állítottuk be. A tenyészeteket ezután laboratóriumi munkaasztalon kiegészítő megvilágítás nélkül 21 °C-on inkubáltuk. Az eredeti tenyésztet fejlődésnek indult széleit „V-8” kereskedelmi márka jelű gyümölcsle agarba tettük, és 4 °C-on sötétben tartottuk.

Nagyon hatásos spóraszaporulatot eredményező *Phomopsis convolulus* tenyésztet hoztunk létre savanyú burgonya dextróz agaron (PDA), majd steril desztillált vízzel leöblítettük. A kapott spóraszuszpenziót PDA 1,2-t [12 g/l burgonya dextróz tápközeg, 15 g/l bakto agar, 100 mg/l novobiocin és 100 ml/l mezei szulák főzet (200 g friss mezei szulák levelet 1 l vízben forraltunk 30–40 percig, leszűrjük, és 15 percen át autoklávban tartottuk)] tartalmazó petri csészékbe tettük. Ezeket a PDA 1,2 tenyészeteket 2–3 héten át, kiegészítő megvilágítás nélkül, laboratóriumi munkaasztalon, 21 °C-on inkubáltuk. A kapott lemezeket 10 ml vízzel felduzzasztottuk, és így milliliterenként $(0,9-1,2) \times 10^{10}$ spórát kaptunk.

A mezei szulák *Phomopsis convolulus* IMI 312959 tenyésztetel való kezelése általában a következőkben ismertetésre kerülő eljárás szerint történt.

A kezelendő növények mindegyikét átnedvesedésig bepermetezzük $(4-6) \times 10^6$ spóra/ml *Phomopsis convolulus* alfa-konidiát és 0,1 térfogat% zselatint tartalmazó szuszpenzióval (a permetezést úgy végeztük, hogy a növények felületéről láthatóan összefüggő cseppek csurogjanak le). Az így beoltott növényeket 10 percen át a levegőn szárítottuk, majd 20 °C-os, nedves kamrába tettük, és ott tartottuk 24 órán át, ezután szaporító kamrába tettük, ahol éjjel 20 °C-on, nappal 15 órán át 15361 lx megvilágítás mellett, 25 °C-on tartottuk. A vizsgált növények magoncát vagy hajtásait 2–4 leveles fejlődési állapotig hagytuk beoltva, kivéve, ha a leírásban egyéb oltási periódust jelzünk.

A kontroll növényeket csak 0,1 tömeg% zselatin-tartalmú oldattal permetezzük be.

1. Példa

Phomopsis convolulus IMI 312959 spóratartalmú oltóanyag készítés

Ebben a példában olyan oltóanyag készítését mutatjuk be, amely mezei szulák gyomirtására alkalmas *Phomopsis convolulus* IMI 312959 spórákat tartalmaz.

A *Phomopsis convolulus* spórákat savanyú burgonya dextróz agarban (a PDA) vagy „V-8” márka-

jelű agarban szaporítottunk 30–40 napon keresztül, 21 °C-on, laboratóriumi munkaasztalon, ezen időtartamon belül közeli ultrabolya fényű kiegészítő megvilágítást alkalmaztunk egy héten keresztül. Ezután a gyorsan szaporodó lapos spóratenyészetekre fecskendővel 10 ml steril, desztillált vizet tettünk, ahogyan a lapos felületet vízzel néhányszor átöblítettük a konidium állomány gyorsan összekeveredett a vízzel. A kapott konidium szuszpenziót PDA 1,2-t [12 g/l burgonya dextróz tápközege, 100 ml/1 novobiocin és 100 ml/1 mezei szulák főzet (200 g friss mezei szulák főzet (200 g friss mezei szulák leveleit 1 l vízben forraltunk 30–40 percig, leszűrtük, és 15 percen át autoklávban tartottuk)] tartalmazó petri csészékbe tettük. A 9 cm átmérőjű petri csészékben lévő agar felületére egyenként 0,4–0,5 ml konidium szuszpenziót csepegtettünk. Ezeket a csészéket ezután 21 °C-on világos vagy sötét helyen inkubáltuk 2–3 héten át. A csészéket egyenként leöblítettük 10 ml vízzel, és így $(0,9-1,2) \times 10^{10}$ spóra/ml koncentrációjú szuszpenziót kaptunk. A petri csészékben lévő konidium életképességét parafilmrel való lezárással csökkentettük. Az életképesség a laboratóriumi körülmények közötti 3 hónapos tárolás után több mint 95% volt. A konidium szuszpenzió 10 tömeg% szukroz oldatban, -70 °C-on, 9 hónapig tárolható úgy, hogy életképes marad.

2. Példa

Ebben a példában az oltóanyag koncentráció betegség kifejlődésére mutatott hatását ismertetjük.

Friss *Phomopsis convolvulus* IMI 312959 konidiumot szuszpendáltunk 0,1 tömeg%-os zselatin oldatban, majd 1×10^5 , 5×10^5 , 5×10^6 és 1×10^7 spóra/ml koncentrációjú szuszpenziókat készítettünk

3. Példa

A nedves kamra periódusidejének hatása a mezei szulák betegségének kifejlődésére

1. táblázat

Az oltóanyag koncentráció (spóra/ml) hatása a *Phomopsis convolvulus* IMI 312959 spórákkal beoltott mezei szulák betegségének kifejlődésére

Oltóanyag (spóra/ml)	Betegség mértéke	Pusztulás (%)	Száraz növénytömeg (g/edény)
$1,0 \times 10^5$	0,9 a ²	0	0,47 d ³
$5,0 \times 10^5$	2,0 ab	0	0,33 c
$1,0 \times 10^6$	3,9 b	66,7	0,17 b
$5,0 \times 10^6$	4,0 b	100,0	0,13 a
$1,0 \times 10^7$	4,0 b	100,0	0,11 a

1. A betegség mértéke:

0= nincs látható tünet;

1= 25% károsodás;

2= 25–50% károsodás;

3= 51–75% károsodás;

4= 75% károsodás

2. Az oszlopon belüli azonos betűjelekkel ellátott középértékek a Friedman vizsgálat szerint $P=0,05$ értéknél szignifikánsan nem különböznek.

3. Az oszlopon belüli azonos betűjelekkel ellátott középértékek a Tukey W vizsgálat szerint $P=0,05$ értéknél szignifikánsan nem különböznek.

Ebben a példában megvizsgáltuk, hogy a nedves

belőle. Mindegyik konidium szuszpenzióval beoltottunk egy-egy edényben lévő 3–5 leveles fejlődési állapotú magoncot. Mindegyik edényben 3 magonc volt. A kontroll magoncokat 0,1 tömeg% zselatin oldattal permetezzük be. A beoltott magoncokat 20 °C-os, nedves kamrába tettük 24 órára, ezután olyan szaporító kamrába tettük, amely éjjel 20 °C-os, nappal 25 °C-os hőmérsékletű volt, és a nappali megvilágítás 15 órán át 15361 lx volt. 15 nap múlva vizuálisan megvizsgáltuk a levélkárosodást, és meghatároztuk a pusztulás %-os értékét, valamint a száraz növénytömeget. A kísérletet még egyszer megismételtük. A kapott eredményeket az 1. táblázatban mutatjuk be. A táblázatban láthatjuk a mezei szulák károsodásának, illetve pusztulásának a spórák készítmény dózistól való függését. Ezen túlmenően azt is láthatjuk, hogy a készítmény $1,0 \times 10^6$ spórákoncentráció felett kiválóan alkalmas a mezei szulák kipusztítására. A *Phomopsis convolvulus* IMI 312959 spórákat tartalmazó készítménnyel beoltott mezei szulák károsodása és kipusztulása az 1. táblázatban láthatóan függ az alkalmazott dózistól. A mezei szulák visszaszorítása $1,0 \times 10^6$ /ml spórákoncentráció felett kiváló.

A vizsgálati eredmények értékelésénél a következő statisztikai módszereket alkalmaztuk:

– Friedman vizsgálat: több, mint két vizsgálat egyidejű statisztikai összehasonlítása;

– Tukey W vizsgálat: középértékek páronkénti összehasonlítása.

Ezeknek a módszereknek az ismertetése az alábbi irodalmi helyen található meg: Robert G. D. Steel and James H. Torrie; Principles and Procedures of Statistics: A biometrical Approach, 2nd edition, McGraw-Hill Book Company 1980. USA.

kamrában való tartózkodás ideje milyen hatással volt a mezei szulák betegségének kifejlődésére.

3–5 leveles fejlődési állapotú mezei szulák ma-

goncokat beoltottuk 5×10^6 spóra/ml koncentrációjú

spóraszuspenzióval. A spóraszuspenziót 0,1 tömeg% zselatin oldatban készítettük. A kontroll növényeket 0,1 tömeg%-os zselatin oldattal permeteztük be. A beoltott palántákat 0, 1,5; 3; 6; 12; 24 és 48 órán át 20 °C-os nedves kamrában tartottuk. Minden kezelt edény 3 magoncot tartalmazott, és minden kezelésnél 5 ismétlést végeztünk. A nedves kamrából a nedves periódus letelte után a növényeket a szaporító kamrába helyeztük, ahol éjjel 20 °C-on, nappal 15 órán át 1531 lx megvilágítás mellett, 25 °C-on tartottuk. 15 nap múlva megvizsgáltuk a betegség kifejlődés mértékét, meghatároztuk a pusztulás %-os értékét, valamint a levelek száraz tömegét. Az eredményeket a 2. táblázatban mutatjuk be. A 3 óránál kisebb nedves periódus idő nem eredményezett kellő mértékű betegség kifejlődést a nedves kamrába tett, beoltott mezei szulákon. 12 óránál hosszabb nedves periódus idő alatt a betegség kifejlődése nagy mértékű volt, de néhány növény túlélte a kezelést. 24 óránál hosszabb nedves periódusidő 100% pusztulást eredményezett.

4. Példa

A kezelt növény életkorának hatása a betegség kifejlődésére és az újra kinövésre

5

10

15

tulús %-os értékét, valamint a levelek száraz tömegét. Az eredményeket a 2. táblázatban mutatjuk be. A 3 óránál kisebb nedves periódus idő nem eredményezett kellő mértékű betegség kifejlődést a nedves kamrába tett, beoltott mezei szulákon. 12 óránál hosszabb nedves periódus idő alatt a betegség kifejlődése nagy mértékű volt, de néhány növény túlélte a kezelést. 24 óránál hosszabb nedves periódusidő 100% pusztulást eredményezett.

A vizsgálati eredmények értékelésénél az 1. példában ismertetett statisztikus módszereket alkalmaztuk.

szaporító kamrába tettük, ahol éjjel 20 °C-on, nappal 15 órán át 1536 lx megvilágítás mellett, 25 °C-on tartottuk. Két hét múlva megvizsgáltuk a növények

2. táblázat

A nedves kamrában töltött időtartam hatása a mezei szulák betegségének kifejlődésére

Nedves órák	Betegség mértéke	Pusztulás (%)	Száraz növénytömeg (g/edény)
Kontroll	0 a ²	0	1,02 c ³
0	0 a	0	0,85 c
1,5	0 a	0	1,00 c
3,0	1,3 a	0	0,98 c
6,0	2,8 ab	8,3	0,56 b
12,0	4,0 b	66,7	0,15 a
24,0	4,0 b	100,0	0,12 a
48,0	4,0 b	100,0	0,12 a

1. A betegség mértéke:

0= nincs látható tünet;

1= 25% károsodás;

2= 25–50% károsodás;

3= 51–75% károsodás;

4= 75% károsodás

2. Az oszlopon belüli azonos betűjelekkel ellátott középértékek a Friedman vizsgálat szerint P= 0,05 értéknél szignifikánsan nem különböznek.

3. Az oszlopon belüli azonos betűjelekkel ellátott középértékek a Tukey W vizsgálat szerint P= 0,05 értéknél szignifikánsan nem különböznek.

Ebben a példában megvizsgáltuk a kezelt növény életkorának hatását a betegség kifejlődésére és újra kinövésére.

3–4 leveles, valamint 5–7 leveles fejlődési állapotú magoncolat és 2–4 leveles fejlődési állapotú hajtásokat hajtattunk ki újra beágyazódott, 2 hónapos korú, gyökerekről. A kapott magoncokat és hajtásokat beoltottuk 0,1 tömeg% zselatin oldatban lévő, 4×10^6 spóra/ml koncentrációjú spóraszuspenzióval. A kontroll növényeket 0,1 tömeg%-os zselatin oldattal kezeltük. Minden kezelést 5-ször ismételtünk meg. A beoltás után a növényeket 24 órára 20 °C-os nedves kamrába helyeztük, majd ezután a

50

55

60

%-os pusztulásának mértékét, majd az összes növényt ugyanolyan koncentrációjú spóraszuspenzióval újraoltottuk, és ugyanolyan körülmények között tartottuk. A növények %-os pusztulásának mértékét most is 2 hét múlva vizsgáltuk meg. A kapott eredményeket a 3. táblázatban mutatjuk be. A fiatal mezei szulák magoncok elpusztítására elegendő volt egyetlen oltás. Az összes, idősebb növény esetén is teljes levélkárosodást értünk el, de a beágyazódott gyökér néhány helyen újrafelődésnek indult. A második beoltás az idősebb növényeknél is nagymérvű pusztulást eredményezett.

3. táblázat

A beoltások számának, valamint a mezei szulák életkorának hatása a *Phomopsis convolvulus* betegség kifejlődésére

Növényi fejlődési állapot	Növény pusztulás (%) első beoltás	második beoltás
<i>Magoncok</i>		
3-4 leveles	100	100
5-7 leveles	71	100
<i>Hajtások</i>		
3-4 leveles (gyökér rész)	100	100
3-4 leveles (beágyazódott növény)	0	40

5. Példa

A *Phomopsis convolvulus* hatása különböző növényekre

60 növényfaj 16 családjából összesen 116 növényt vizsgáltunk meg azért, hogy meghatározzuk a *Phomopsis convolvulus* fertőzés hatására bekövetkező viselkedésüket. Az *Ipomoea batatas* és a *Vitis vinifera* kivételével mindegyik növényt magról neveltük. Minden vizsgálatot összesen 12 növényen végeztünk el (edényenként 3 palánta, 4 ismétlés). A növényeket teljes átnedvesedésig kezeltük 0,1 tömeg% zselatin oldatban lévő $(5-6) \times 10^6$ spóra/ml spórákoncentrációjú oltóanyag szuszpenzióval. Minden egyes növényfajta esetén 12 növényt 0,1 tömeg%-os zselatin oldattal kezeltünk. Minden egyes permetezésnél mezei szulák bepermetezést is végeztünk az oltóanyag virulens voltának biztosítására. A beoltott növényeket 20 °C-os nedves kamrába helyeztük 24 órára, majd áttettük szaporító kamrákba, ahol éjjel 20 °C-on, nappal 15 órán keresztül, 15361 lx megvilágítás mellett, 25 °C-on tartottuk. A kapott eredményeket a 4. táblázatban mutatjuk be.

Az egyetlen növény, amelyre a *Phomopsis convolvulus* tényleges pusztító hatással volt, a mezei szulák. Azonban a betegség az összes, vizsgált *Convolvulus* és *Calistegia* fajokon kifejlődött. Azt tapasztaltuk, hogy a *Phomopsis convolvulus* erőteljesen fertőző hatású az összes, vizsgált *Convolvulus* és *Calistegia* fajra, enyhén fertőző a cukorrépára, a napraforgóra és a *Quamoclit* penattára, de nem fertőző a többi, vizsgált növényre.

4. táblázat

A *Phomopsis convolvulus* hatása különböző növényekre ellenőrzött vizsgálati körülmények között

Vizsgált fajták	Betegség tünet ¹
1.	2.
CONVOLVULACEAE család	
<i>Convolvulus arvensis</i> L.	S
<i>Convolvulus uncaulis</i> L.	S
<i>Convolvulus tricolor</i> L.	S
<i>Convolvulus althaeoides</i> L.	S

4. táblázat folytatása

A *Phomopsis convolvulus* hatása különböző növényekre ellenőrzött vizsgálati körülmények között

Vizsgált fajták	Betegség tünet ¹
1.	2.
<i>Convolvulus cneorum</i> L.	S
<i>Convolvulus</i> sp.	S
<i>Calistegia atripicifolia</i> (H.)	S
<i>Calistegia collina</i> (H.)	S
<i>Calistegia fulcrata</i>	S
<i>Calistegia longipes</i>	S
<i>Calistegia macrostegia</i>	S
<i>Calistegia malacofilla</i>	S
<i>Calistegia occidentalis</i>	S
<i>Calistegia purpurata</i>	S
<i>Calistegia sepium</i> (L.) R.Br.	S
<i>Calistegia silvatica</i>	S
<i>Calistegia soldanella</i>	S
<i>Calistegia stebbinsii</i>	S
<i>Calistegia subacaulis</i>	S
<i>Ipomoea alba</i>	R ⁺
<i>Ipomoea batatas</i>	R ⁺
<i>Ipomoea heberacea</i>	R ⁺
<i>Ipomoea hederifolia</i>	R ⁺
<i>Ipomoea nil</i> (L.)	R
<i>Ipomoea purpurea</i>	R
<i>Ipomoea quamoclit</i>	R
<i>Ipomoea trichocarpa</i>	R ⁺
<i>Ipomoea tricolor</i>	R ⁺
<i>Ipomoea violacea</i>	R ⁺
<i>Ipomoea wrightii</i>	R ⁺
<i>Argireia nervosa</i>	R
<i>Dichondra repens</i>	R ⁺⁺
<i>Quamoclit pennatta</i>	S ⁺
<i>Quamoclit coccinea</i>	R
<i>Merremia tuberosa</i>	R
<i>Stilisma humistrata</i>	R
POLEMONIACEAE család	
<i>Cobaea scandens</i>	R
<i>Collomia biflora</i>	R
<i>Gilia capitata</i>	R
<i>Gilia tricolor</i>	R

13

3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a gomba spóratenyészetet levél permetezőszer formában alkalmazzuk.

4. Eljárás *Phomopsis convolvulus* IMI 312959

14

gombatenyészet előállítására, *azzal jellemezve*, hogy a tárgyi körben megadott mikroorganizmust megfelelő táptalajon tenyésztünk.

Kiadja: Országos Találmányi Hivatal, Budapest
Felelős kiadó: dr. Szvoboda Gabriella

KÓDEX