

# A *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr kórokozó gomba fejlődési hőoptimumának meghatározása burgonya-dextróz agar táptalajon

Kovács Gabriella – Radócz László

Debreceni Egyetem MÉK Növényvédelmi Intézet, Debrecen  
kovacs.gabriella@agr.unideb.hu

## ÖSSZEFOGLALÁS

Az európai szelídgesztenye (*Castanea sativa*) egyik legjelentősebb betegsége a kéregrákosodást okozó *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr gombafaj. Az ellene való védekezés eddigi egyetlen hatásos szabadföldi módszere a biológiai növényvédelem: a fertőzött ráros gesztenye kéregrészt in situ körbeoltása a betegséget kiváltó (virulens) gombával kompatibilis hipovirulens törzssel, utóbbi paraszexuális módon (hifa anasztomózis) átadhatja azt a vírusszerű részecskét (VLP), amely a hipovirulenciáért felelős. A védekezés optimális végrehajtási időpontjának meghatározásához laboratóriumi körülmények közt vizsgáltuk a gombatelepek növekedésének intenzitását különböző hőmérsékleten. Várakozásainknak megfelelően túl alacsony hőmérsékleten lassú növekedést mutatott az összes vizsgált gombatörzs. Azonban nagyon magas hőmérsékleten ugyanolyan intenzitással fejlődtek, mint a számukra optimálisnak tartott 20-25 °C-on. A szabadföldi védekezés időpontját e kísérleti eredmények és a meteorológiai adatok alapján Magyarországi körülmények között májusban, illetve szeptember végén-októberben lehet célszerű elvégezni.

## SUMMARY

The most destructive pathogen for the European chestnut trees is the blight fungus *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr. The biological control is the only effective possibility to apply in situ biocontrol by hypovirulent strains against compatible virulent (wild) fungus strains. The infested bark tissues can inoculate by drilling holes surrounding and putting into agar discs interwoven by the appropriate vegetative compatible group (VCG) hypovirulent fungus strains. This latest can pass those virus-like particles (VLPs) by parasexual contact (called hypha-anastomosis) which responsible to hypovirulence. A laboratory experiment was made to find the optimal times to carry out the treatments. The intensity of growth of fungal colonies were analysed on different temperatures. The growth of the fungus on low temperature were rather slow, according to our expectations. On higher temperature the colony progress were the same as on the optimal 20-25 °C. These observations and the environment determine the date of the field applications under Hungarian weather conditions. It means the optimal treatment periods can be May or end of September to middle October in Hungary.

**Kulcsszavak:** szelídgesztenye, *Cryphonectria parasitica*, hőmérséklet, fejlődési intenzitás

**Keywords:** Chestnut, *Cryphonectria parasitica*, temperature, growing intensity

## BEVEZETÉS

Az európai szelídgesztenye (*Castanea sativa*) Európa mediterrán égövének jellegzetes képviselője, főként ültetvényekben természetük gyümölcséért. Jelentősége évről-évre nő, mivel az Európai termés mennyisége nem fedezi a szükségletet. A világ legnagyobb szelídgesztenye termelője Kína, ahonnan nagy mennyiségű termés érkezik minden évben. A folyamatos igényű felvevőpiac miatt egyre több déli országban, mint Törökország, Spanyolország és Portugália is növekvő tendenciát mutat a termőterületek nagysága. Ezt elősegíti az is, hogy a talaj minőségére nem különösebben igényes, csak a meszes talaj kerülendő. Csapadékigénye 800 mm/év körüli, öntözést csak a telepítést követő időszakban igényel. Betegségei közül a legjelentősebbek a kéregrákosodásért felelős *Cryphonectria parasitica* gombafaj, a tintabetegséget okozó *Phytophthora* fajok (*Ph. cambivora*, *Ph. cinnamomi*), a levélfoltosságot előidéző *Mycosphaerella maculiformis* gomba, illetve állati kártevői közt megtalálhatók különböző lepke fajok, bogarak, azok lárvái, valamint a gerincesek. Az utóbbi években kiemelt figyelmet kapott a hazánkban 2008-ban toscanai szaporítóanyaggal behurcolt, majd felszámolt szelídgesztenye-gubacsdarázs (*Dryocosmus kuriphilus*) fertőzöttség, mely gubacsával levéldeformitást okoz, ezzel együtt kisebb asszimiláló felületet engedve a szelídgesztenye levélen, melynek következménye lehet a termés nagyságának, mennyiségének és minőségének csökkenése (Csóka et al. 2009). Összességében a szelídgesztenye-termesztés nagy odafigyelést igényel, a betegségek és kártevők megjelenését rendszeresen ellenőrizni kell, és mint a kéregrák esetében is, azonnal szükséges a védekezés.

A *Cryphonectria parasitica* gombafaj nemcsak a gyors terjedése miatt veszélyezteti az ültetvényeket, hanem az ellene való biológiai védekezés is nehezebb a gomba különböző vegetatív kompatibilitási csoportjai (típusai) (Vegetative Compatibility Groups, VCGs) miatt. Európában több mint 30 VCG található meg. Ennek oka abban keresendő, hogy a kórokozó Európába jutása három bekerülési útvonalon is történt. Az 1920-as években a

tintabetegség nagymértékben pusztította az európai szelídgesztenyét. Mivel a kínai szelídgesztenye (*Castanea cernata*) jelentős toleranciával rendelkezik vele szemben, így a védekezést az ázsiai alanyokra oltás jelentette. Azonban ez a faj toleráns a kéregrákkal szemben is, így nem volt szembetűnő, hogy az alanyokkal együtt más betegség is bekerült Olaszországba (Biraghi 1946). A másik út az 1950-es években Franciaországon keresztül vezetett (Prospero és Rigling 2012) míg a harmadik, nemrégiben közölt lehetséges fertőzési irány Grúzia területén keresztül érte el Európát (Dutech et al. 2012). Magyarországon az 1960-as évek végén írták le először a *Cryphonectria parasitica* megjelenését (Körtvély 1969) Hazánkban három VCG előfordulása jellemző, az EU-12, EU-13 és EU-16, de ezek közül a legnagyobb részarányban az EU-12-es törzs van jelen (Göröcsös 2015).

A biológiai védekezéshez a megfelelő VC-típus megtalálásán kívül jelentős szerepe van a védekezés időpontjának helyes megválasztásának. Mind a virulens, mind pedig a hipovirulens gombatorzs fejlődésének ideális hőmérsékleti tartománya 20-25 °C között van. Az aszkospórák szóródása 18-27 °C között intenzív (Heald és Studhalter 1915). Feltételezésünk szerint így a védekezésre megfelelő időpontok Magyarországon a tavaszi és őszi időszak lehetnek. Braganca és munkatársai (2011) vizsgálták a különböző *Cryphonectria* törzsek optimális hőmérsékleti igényét burgonya-dextróz agar (BDA) táptalajon. Kísérletükben 5 °C és 40 °C között mérték az egyes gombatelepek átmérőjét 1 hónapon keresztül. Saját kísérletünk célja az volt, hogy laboratóriumi körülmények közt megállapítsuk, hogy a *Cryphonectria parasitica* virulens és hipovirulens törzsei számára mi az optimális hőmérséklet, ahol a leggyorsabban növekednek mesterséges körülmények között. Kerestük a választ arra is, hogy 27 °C-nál magasabb hőmérsékleten a gombák növekedése lelassul-e, illetve van-e különbség a virulens és hipovirulens gombák fejlődésének ütemében? E kérdések megválaszolására az ültetvényekben, elegendő erdőben való védekezés időpontjának meghatározása szempontjából van szükség.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgálatokhoz használt törzseket a 2015-2016. években magyarországi szelídgesztenyéről gyűjtött mintákból választottuk ki. Mivel molekuláris biológiai vizsgálatok eredményei nem állnak rendelkezésünkre, így a korábbi vizsgálatainkra hagyatkoztunk a virulens és hipovirulens törzsek esetében. Ez annyit tesz, hogy a virulens törzsek friss burgonyából főzött BDA táptalajon erősen pigmentálódnak, míg a hipovirulens törzsek fehér színűek maradnak. Azaz kiválasztottunk három feltehetően virulens és három valószínűsíthetően hipovirulens törzset. Virulens törzsek voltak: Zengővárkonyi (ZvV), EU-12 és Pécsbányai (PBH), míg a hipovirulens törzsek: Zengővárkonyi (ZvH), Nagymarosi (NM) és Pécsbányai (NH11). A hipovirulens törzsek esetében az NM jelzésű gombával több helyen végeztünk sikeres kezeléseket, ahol a kéreg egyértelműen gyógyulásnak is indult. A hat gombatorzset négy ismétlésben, BDA táptalajon sötét termosztátokba helyeztük 10, 15, 20, 25 és 30 °C hőmérsékleten és naponta mértük a telepek átmérőjét.

A gombatelepek átmérőjét Braganca et al. (2011) módszerének megfelelően 30 napig mértük, kivéve, ha a gombafonalak hamarabb átszőtték a 9 cm átmérőjű Petri-csészéket teljes táptalaj felületét.

## EREDMÉNYEK

Mérési napok (1)	Virulens (2)		Hipovirulens (3)	
	10 °C	25 °C	10 °C	25 °C
	Telepátmérő (cm) (4)			
1	0		0	
2	0		0	
3	0	3,3	0	4,3
4	0	4,35	0	5,75
5	0	5,25	0	7,25
6	1,4		1,13	
7	1,6	7,1	1,57	8,5

10 °C-on a harmincadik cm volt a gombatelepek gombatörzs esetében, és az kezdett el növekedni a BDA átoltáshoz használt az is megfigyelhető, hogy virulens gombák növekedése hipovirulenseké (1. hőmérsékleten már fejlődtek a gombatörzsek után 3-3,5 centiméter míg 10 °C-on csupán 1-1,5 legfeljebb 15 nap volt gomba teljesen beszöje a

8				
9		8,5		
10	2,23		2,67	
11				
12	3		3,43	
13				
14	4		3,77	
15				
16				
17	4,4		4,13	
18	4,6		4,4	
19	4,6		4,4	
20	5		4,5	

napra is csupán maximum 7 átmérője mind a hat vizsgált átoltást követő ötödik napon táptalajon, addig csak az tápkockát szötte be. Továbbá ilyen hőmérsékleten a valamivel gyorsabb, mint a táblázat). 15 °C-os érzékelhetően gyorsabban minden esetben. Hat nap átmérőjük voltak a telepek, centiméteresek. 15 °C-on szükséges ahhoz, hogy a Petri-csészét.

1. táblázat

**Virulens és hipovirulens gombatelepek fejlődése 10 °C és az optimális 25 °C -oshőmérsékleten**

Tápkocka mérete: kb. 1 \* 1 \* 0,1 cm

Table 1: Growing of virulent and hypovirulent strains of *Cryphonectria parasitica* on 10 °C and on the optimal 25 °C temperatures

Size of agar cube: cca. 1 \* 1 \* 0,1 cm

days of measuring (1), Diameter of colonies in cm (2), virulent strains (3), hypovirulent strains (4),

20 és 30 °C között a telepek növekedésében lényegi különbség nem tapasztalható, a gomba 7-10 napon belül teljesen átszövi a BDA táptalajt. (1. és 2. ábra) Továbbá sem a virulens sem a hipovirulens törzsek közt nem figyeltünk meg számottevő különbséget, növekedésük naponta 0,8-1,4 cm közé tehető.

1. ábra: A „Zv” virulens gombatörzs fejlődési intenzitása BDA táptalajon, különböző hőmérsékleten

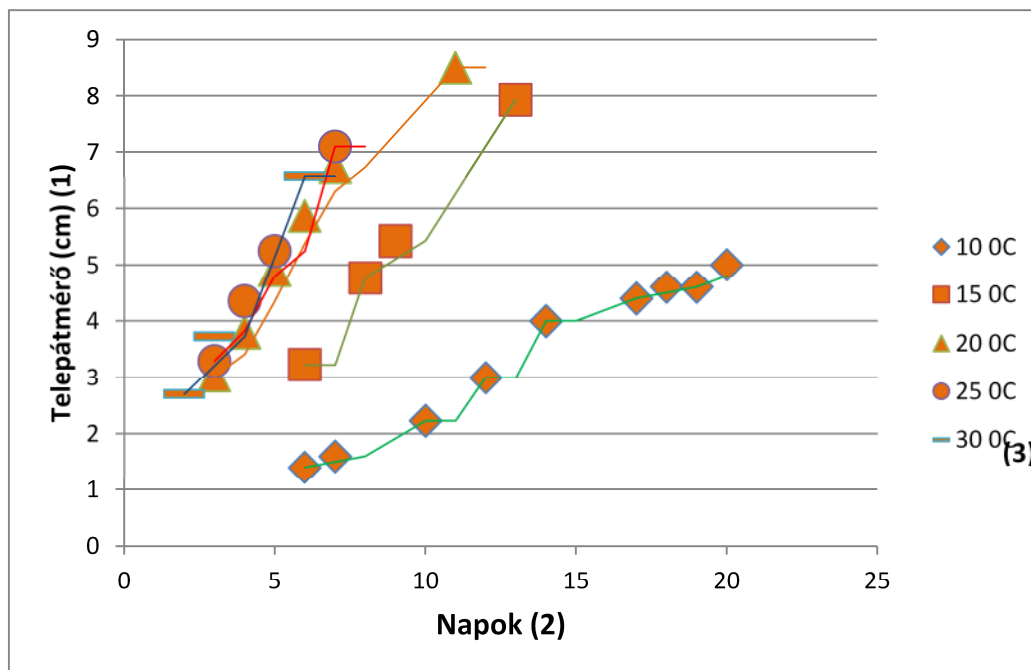


Figure 1: The growing intensity of Zv virulent strain on different temperature on PDA media diameter of colonies in centimeter (1), days of measuring (2), temperatures (3)

2. ábra: „NM” hipovirulens törzs fejlődése BDA táptalajon, különböző hőmérsékleteken

Figure 2: The growing intensity of NM hypovirulent strain on different temperature on PDA media diameter of colonies in centimeter (1), days of measuring (2), temperatures (3)

A szabadföldi kezelésekhöz szükséges oltóanyag előállítására a fenti adatok alapján 20 °C-on egy hétre van szükség. A kezelések optimális idejének meghatározása a változó időjárási körülmények miatt nehézkes. Elsősorban az átlag hőmérsékletet vesszük alapul, de lényeges szerepe van a napsütéses órák számának is a kezelés idején és az azt követő napokon. 2015-ben Pécs-bányán két időpontban kezeltük a szelídgesztenye ligetet. Az első május közepén történt. Egy meteorológiai weblap adatai szerint 2015. májusban a havi átlag hőmérséklet 17 °C volt. A napi minimumok 7 °C körül alakultak, míg a legmagasabb hőmérséklet közel 30 °C volt. A másik kezelés időpontja az ideálisnál később történt, november első napjaiban, amikor a napi középhőmérséklet már csak 8 °C körül alakult. A kezelés napján a reggeli órákban csupán 3-4 °C-ot mértek, viszont szép napsütéses időjárás volt. A nap további részében a napsütés hatására a hőmérséklet elérte a 15-18 °C-ot. Mindkét kezelés eredményes volt. (3. ábra)

3. ábra: A hipovirulens *Cryphonectria parasitica* törzsszel kezelt rákos seb gyógyulása, kezelés előtt: 2015. május 23., 2016.05.18. és 2016.10.08.



Figure 3: Recovering chestnut bark cancer treated by hypovirulent *Cryphonectria parasitica* strain, before treatment 23.05.2015., one year after the treatment 18.05.2016. and 08.10.2016.

## KÖVETKEZTETÉSEK

Szabadföldi körülmények közt a 10 °C-os hőmérséklet már nem ideális a kezelések elvégzésére a növekedés rendkívül lassú intenzitása miatt, továbbá mert a virulens gombák ezen a hőmérsékleten valamivel gyorsabban fejlődnek, mint a hipovirulensek. Az időjárás kiszámíthatatlansága miatt azonban ilyen körülmények között megoldás lehet, hogy ha a megszokottnál sűrűbben helyezzük el a kezeléseket a tápkockákat a fa kérgében, ezzel megakadályozva a virulens gomba esetleges „megszökését”. Öt Celsius fokos emelkedés már lényegi változást okozott méréseink során, a gombatelepek jóval hamarabb indultak fejlődésnek, így feltételezzük, hogy szabadföldi körülmények közt is számottevő lehet néhány Celsius fokos emelkedés. Tehát, ha a kezelés időpontja nem teljesen optimális, célszerű napsütéses időben elvégezni a kezeléseket. Ilyenkor a fa törzse a napsugaraktól még átmelegszik annyira, hogy képes lesz a gomba néhány nap alatt a kambiumba hatolni. 20 és 30 °C között lényegi különbséget nem tapasztaltunk a gombatelepek fejlődése során, azonban maga a táptalaj magasabb hőmérsékleten többet veszít a nedvességtartalmából. Vagy is kevesebb ideig képes táplálékot szolgáltatni a gombának, mialatt az behatol a kéregbe.

A laboratóriumi kísérlet eredményei és a szabadföldi kezeléseink tapasztalatai alapján a kezelések ideális időpontja Magyarországon május illetve szeptember vége-október elejére tehető.

## IRODALOM

- Biraghi, A. 1946: Il cranco del castagno causato da *Endothia parasitica*. Agric. Ital. 7: 1-9.
- Braganca, H.,-Rigling, D.,-Diogo, E.,-Capelo, J.,-Phillips, A.,-Tenreiro, R. 2011: *Cryphonectria naterciae*: A new species in the *Cryphonectria – Endothia* complex and diagnostic molecular markers based on microsatellite-primed PCR. Fungal Biology 115: 852-861.
- Csóka Gy.,-Wittmann F.-Melika G. 2009: A szelídgesztenye gubacsdarázs (*Dryocosmus kuriphilus* Yasamatsu 1951) megjelenése Magyarországon. Növényvédelem 45(7): 359-360.
- Dutech et al. (2012): The chestnut blight fungus world tour: successive introduction events from diverse origins in an invasive plant fungal pathogen. Mol. Ecol. 21: 3931-3946.
- Görcsös G. (2015): A Kárpát-medencei *Cryphonectria parasitica* (Murill.) Barr szubpopulációk molekuláris biológiai összehasonlító vizsgálata. Doktori értekezés, Debreceni Egyetem, Hankóczy Jenő Doktori iskola. 152 pp.
- Heald, F. D.,-Studhalter, R. A. 1915: Seasonal duration of ascospore exulsion of *Endothia parasitica*. Amer.J.Bot. 2:429-448.
- Körtvély A. 1969: A gesztenye endotiás kéregelhalása. Növényvédelem 6: 358-361.
- Prospero, S., Rigling, D. 2012: Invasion genetics of the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica* in Switzerland. Phytopathology 102: 73-82.