

## A *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr kórokozó gomba fejlődési hőoptimumának meghatározása burgonya-dextróz agar táptalajon a hipovirulens törzsekkel végzendő biológiai védekezés optimalizálására

Kovács Gabriella – Radócz László

Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar,  
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, így ez utóbbi paraszexuális módon (hifa anasztomózis) átadhatja azt a víruszerű 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, nagyon magas hőmérsékleten azonban ugyanolyan intenzitással fejlődtek, mint a számukra optimálisnak tartott 20–25 °C-on. A szabadföldi védekezést Magyarországi körülmények között – e kísérleti eredmények és a meteorológiai adatok alapján – májusban, illetve szeptember végén, októberben célszerű elvégezni.

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

### 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.

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

### BEVEZETÉS

Az európai szelídgesztenye (*Castanea sativa*) Európa mediterrán égövének jellegzetes képviselője, főként ültetvényekben termesztik 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 felvevőpiaci igény folyamatossága 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. Csapadékgénye 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 be-

hurcolt, majd felszámolt szelídgesztenye-gubacsdarázs (*Dryocosmus kuriphilus*) fertőzöttség, amely gubacsai-val 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 védekezési beavatkozás.

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, aminek oka abban keresendő, hogy a kórokozó három bekerülési útvonalon jutott be Európába. 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, ez a faj azonban 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 1969-ben észlelték először a *Cryphonectria parasitica* megjelenését (Körtvély 1970). 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 (Görcsös 2015).

A biológiai védekezéshez a megfelelő VC-típus megtalálásán kívül jelentős szerepe van a védekezési időpont helyes megválasztásának. Mind a virulens, mind a hipovirulens gombatorzs fejlődéséhez az ideális hőmérsékleti tartomány a 20–25 °C, az askospórák szóródása is 18–27 °C között intenzív (Heald és Studhalter 1915), így feltételezésünk szerint Magyarországon a védekezésre a legmegfelelőbb a tavaszi és az őszi időszak lehet. Braganca et al. (2011) vizsgálták a különböző *Cryphonectria* törzsek optimális hőmérsékleti igényét burgonya-dextróz agar (BDA) táptalajon. Kísérletükben egy hónapon keresztül 5 és 40 °C között mérték az egyes gombatelepek átmérőjét. Saját kísérletünk egyik célja volt, hogy laboratóriumi körülmények között állapítsuk meg a *Cryphonectria parasitica* virulens és hipovirulens törzsei számára az optimális hőmérsékletet, ahol mesterséges körülmények között a leggyorsabban növekednek. Választ kerestük továbbá arra is, hogy a gombák növekedése lelassul-e 27 °C-nál magasabb hőmérsékleten, illetve, hogy van-e különbség a virulens és hipovirulens gombák fejlődésének ütemében. E kérdések megválaszolására az ültetvényekben, elegy-erdőkben való védekezés időpontjának meghatározása szempontjából van szükség.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgálathoz 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. Kiválasztottunk három feltehetően virulens és három valószínűsíthetően hipovirulens törzset. A három virulens törzs: a Zengővárkonyi (ZvV), az EU-12 és a Pécsbányai (PBH), míg a három hipovirulens törzs: a Zengővárkonyi (ZvH), a Nagymarosi (NM) és a Pécsbányai (NH11) volt. A hipovirulens törzsek esetében az NM jelzésű gombával több helyen végeztünk sikeres kezeléseket, ahol a kérés egyértelműen gyógyulásnak is indult. A három-három gombatorzset négy ismétlésben, BDA táptalajon sötét termosztátokba helyeztük 10, 15, 20, 25 és 30 °C hőmérsékletre, és a telepek átmérőjét Braganca et al. (2011) módszerének megfelelően 30 napig mértük, kivéve, ha a gombafonalak hamarabb átszöttek a 9 cm átmérőjű Petri-csészék teljes táptalajfelületét (8,5 cm).

## EREDMÉNYEK

A gombatelepek átmérője 10 °C-on a harmincadik napon is csupán maximum 7 cm volt mind a hat vizsgált gombatorzs esetében, a növekedés a BDA táptalajon az átoltást követő ötödik napon kezdődött, addig csak az átoltáshoz használt tápkockát szötte át. Megfigyelhető továbbá az is, hogy ilyen hőmérsékleten a virulens gombák növekedése valamivel gyorsabb, mint a hipovirulenseké (1. táblázat).

1. táblázat

A ZvV virulens és ZvH hipovirulens *C. parasitica* gombatelepek fejlődése a 10 °C-os minimum és a 25 °C-os optimális hőmérsékleten

Mérési napok(1)	Telepátmérő (cm)(2)			
	Virulens gombatelep(3)		Hipovirulens gombatelep(4)	
	10 °C	25 °C	10 °C	25 °C
1	0	n.a.	0	n.a.
2	0	n.a.	0	n.a.
3	0	3,30	0	4,3
4	0	4,35	0	5,75
5	0	5,25	0	7,25
6	1,40	n.a.	1,13	n.a.
7	1,60	7,10	1,57	8,50
8	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
9	n.a.	8,50	n.a.	n.a.
10	2,23		2,67	
11	n.a.		n.a.	
12	3,00		3,43	
13	n.a.		n.a.	
14	4,00		3,77	
15	n.a.		n.a.	
16	n.a.		n.a.	
17	4,40		4,13	
18	4,60		4,40	
19	4,60		4,40	
20	5,00		4,50	

Megjegyzés: a tápkocka mérete kb. 1×1×0,1 cm, n.a.=nincs adat.

Table 1: Growing of 'ZvV' virulent and 'ZvH' hypovirulent strains of *Cryphonectria parasitica* on the 10 °C minimum and 25 °C optimum temperatures

Days of measuring(1), Diameter of colonies in cm(2), Virulent strains(3), Hypovirulent strains(4), Note: size of agar cube cca. 1×1×0.1 cm, n.a.= no measured data

A gombatorzsek 15 °C-os hőmérsékleten minden esetben érzékelhetően gyorsabban fejlődtek, a telepek átmérője hat nap után már 3–3,5 cm volt (míg 10 °C-on csupán 1–1,5 cm), így ezen a hőmérsékleten legfeljebb 15 napra volt szükség ahhoz, hogy a gomba teljesen benője a Petri-csészét.

A telepek növekedésében a 20 és a 30 °C-os hőmérsékleti értékek esetében nem tapasztalható lényegi különbség, a gomba 7–10 napon belül teljesen átszövi a BDA táptalajt (1–2. ábra), továbbá a virulens és a hipovirulens törzsek között sem figyelhető meg számottevő különbség, növekedésük 0,8–1,4 cm közé tehető naponta.

1. ábra: A 'Zv' virulens gombatörzs fejlődési intenzitása BDA táptalajon különböző hőmérsékleteken (°C)

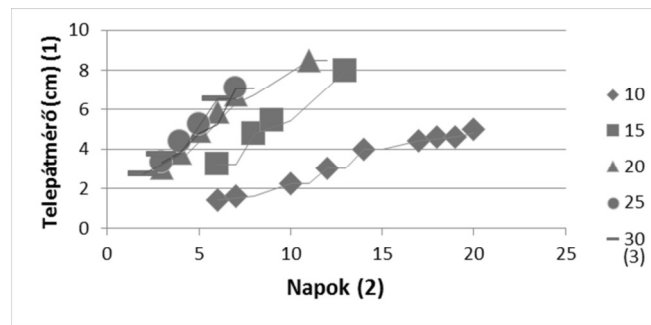


Figure 1: The growing intensity of 'Zv' virulent strain on different temperature (°C) on PDA media Diameter of colonies (cm)(1), Days of measuring(2), Temperature (°C)(3)

2. ábra: Az 'NM' hipovirulens gombatörzs fejlődési intenzitása BDA táptalajon különböző hőmérsékleteken (°C)

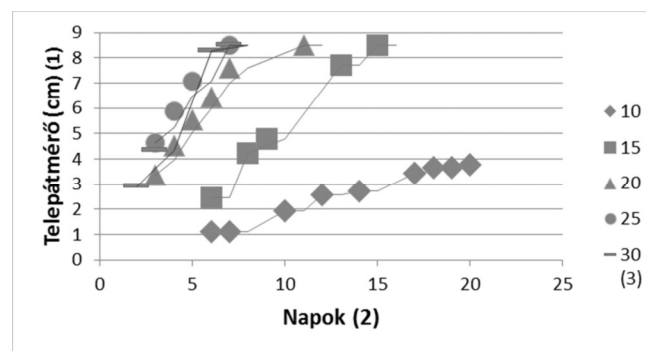


Figure 2: The growing intensity of 'NM' hypovirulent strain on different temperature (°C) on PDA media Diameter of colonies (cm)(1), Days of measuring(2), Temperature (°C)(3)

A mérési adatok alapján a szabadföldi kezelésekhez szükséges oltóanyag előállítására 20 °C-on egy hétre van szükség. A változó időjárási körülmények miatt nehézkes ugyan a kezelések optimális idejének meghatározása, ehhez elsősorban az átlagos napi hőmérsékletet vesszük alapul, továbbá lényeges szerepe van a napsütéses órák számának a kezelés idején és az azt követő napokon is.

Pécsbányán 2015-ben két időpontban kezeltük a szelídgesztenye ligetet. Az első kezelés 2015. május közepén történt, ekkor a havi átlaghőmérséklet 17 °C volt, a napi minimumok 7 °C körül alakultak, míg a legmagasabb hőmérséklet közel 30 °C volt. A második kezelés november első napjaiban, az ideálisnál később történt, ekkor a napi középhőmérséklet 8 °C körül alakult, a kezelés napján a reggeli órákban csupán 3–4 °C-ot mértek, a szép napsütéses időjárásnak köszönhetően később a hőmérséklet a 15–18 °C-ot is elérte, így mindkét kezelés eredményes volt (3. ábra).

### KÖVETKEZTETÉSEK

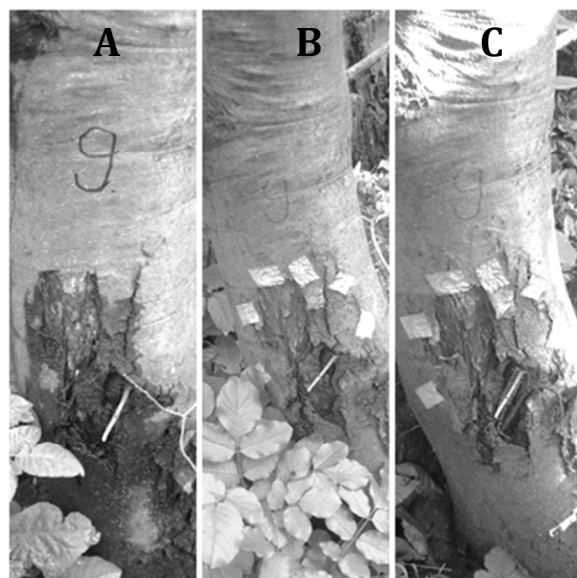
Szabadföldi körülmények között már nem ideális a 10 °C-os napi átlaghőmérséklet a kezelések elvégzésére egyrészt a növekedés rendkívül lassú intenzitása miatt, másrészt mert a virulens gombák ezen a hőmérsékleten valamivel gyorsabban fejlődnek, mint a hipovirulensek. Ilyen kezelési körülmények között – és az időjárás változékonysága miatt – megoldás lehet, ha a megszokottnál sűrűbben helyezük el a fa kérgében a tápkockákat, így módon akadályozva a virulens gomba esetleges „megszökését”.

3. ábra: Az 'NM' hipovirulens *Cryphonectria parasitica* törzssel kezelt rákos seb gyógyulása

A: a kezelés előtt (2015. 05. 23.)

B: egy évvel a kezelés után (2016. 05. 18.)

C: másfél évvel a kezelés után (2016. 10. 08.)

Figure 2: Recovering chestnut bark cancer treated by 'NM' hypovirulent *Cryphonectria parasitica* strain [A: before treatment (23.05.2015), B: one year after the treatment (18.05.2016), C: one and a half year after the treatment (08.10.2016)]

Mivel méréseink során már 5 °C-os hőmérséklet-emelkedés is lényegi változást – így jóval hamarabb fejlődésének indult gombatelepeket – eredményezett, ennek okán azt feltételezzük, hogy szabadföldi körülmények között is számottevő lehet a hőmérséklet néhány Celsius fokos növekedése. Az optimálisnál alacsonyabb hőmérsékleti értékek esetén a kezeléseket célszerű lehet napsütéses időben elvégezni, mert a fa törzse a napsugaraktól még átmelegszik annyira, hogy a hipovirulens gomba képes lesz néhány nap alatt a kambiumba hatolni.

A gombatelepek fejlődésében a 20 és a 30 °C-os hőmérsékleti értékek eredményeinek vizsgálata során nem tapasztaltunk lényegi különbséget, mivel azonban táptalaj a magasabb hőmérsékleten gyorsabban veszít nedvességtartalmából, rövidebb ideig lesz képes táplálékot szolgáltatni a hipovirulens gombának, mialatt az behatol a kéregbe.

A laboratóriumi kísérlet eredményei és a szabadföldi kezelések tapasztalatai alapján Magyarországon a kezelések ideális ideje májusra, illetve a szeptember végi–október eleji időszakra 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 gubacs-darázs (*Dryocosmus kuriphilus* Yasamatsu 1951) megjelenése Magyarországon. Növényvédelem. 45. 7: 359–360.
- Dutech, C.–Barres, B.–Bridier, J.–Robin, C.–Milgroom, M. G.–Ravigne, V. (2012): The chestnut blight fungus world tour: successive introduction events from diverse origins in an invasive plant fungal pathogen. Mol. Ecol. 21: 3931–3946.
- Görösös G. (2015): A Kárpát-medencei *Cryphonectria parasitica* (Murill.) Barr szubpopulációk molekuláris biológiai összehasonlító vizsgálata. Doktori PhD értekezés. Debreceni Egyetem. 152.
- Heald, F. D.–Studhalter, R. A. (1915): Seasonal duration of ascospore explosion of *Endothia parasitica*. Amer. J. Bot. 2: 429–448.
- Körtvély A. (1970): A gesztenye endotias kéregelhalása. Növényvédelem. 6: 358–361.
- Prospero, S.–Rigling, D. (2012): Invasion genetics of the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica* in Switzerland. Phytopatology. 102: 73–82.