

Növényi kivonat felhasználhatóságának lehetősége *Alternaria alternata* elleni védekezésben

Tóth Csaba Tamás – Csubák Mária

Debreceni Egyetem Agrár- és Gazdálkodástudományok Centruma,
Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar,
Agrokémiai és Talajtani Intézet, Debrecen
tcst@vipmail.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

Hazánkban igen súlyos problémákat okoz az ürömlevelű parlagfű (*Ambrosia artemisiifolia*). Már 5 millió hektár mezőgazdasági terület fertőzött ezzel a kórokozóval, amelynek szerint haszontalan gyomnövény. Allergológiai szempontból a legtöbb problémát okozó behurcolt gyomunk. Azonban számos élettanilag igen kedvező hatású vegyületet is tartalmaz, melyek hatásait már az indiánok is ismerték. Ezek alapján a parlagfűvet akár gyógynövénynek is tekinthetnénk. Kísérleteink célja annak bizonyítása, hogy az ürömlevelű parlagfű, mint gyomnövény tartalmaz antifungális hatású hatóanyagokat is. A dolgozatban a növényi extraktumot az *Alternaria alternata* F.00750 ellen *in vitro* teszteltük. Vizsgálatai eredményeink alapján elmondható, hogy a parlagfű olyan biológiailag aktív hatóanyagot, ill. hatóanyagokat tartalmaz, amelyek gátolják az *Alternaria alternata* szaporodását. A legkisebb hatékony koncentráció 300 mg kivonat/Petri-csésze volt, amely 3 napig gátolta a gomba növekedését. Teljesértékű fungicidnek bizonyult a kivonatunk 525 mg fölött.

Kulcsszavak: parlagfű, biológiai gátló hatás, *Alternaria alternata*

SUMMARY

In our country, wormwood ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) may cause serious problems. Nearly 5 million hectares of agricultural area was infected with ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*), which is believed useless weed. Allergological point of view, most problematic weeds adventive. However, many physiologically very beneficial compound also included, those with the effects have been known also by the Indians. On this basis, herbs can be thought of as ragweed. Our goal was to present that the ragweed contains antifungal active substances as well. In this paper we tested the biological activity of the extracts against *Alternaria alternata* F.00750 *in vitro*. We related based on our examination that ragweed contains biologically active agents, by which it is hampered the reproduction of the *Alternaria alternata*. The minimum effective concentration was 300 mg extract in a Petri dish, which was three days inhibited the growth of fungus. Full fungicidal effect was observed over dose 525 mg.

Keywords: ragweed, biological inhibition effect, *Alternaria alternata*

BEVEZETÉS

A fészkesek (*Asteraceae*) családjába tartozó ürömlevelű parlagfűvet – a kontinensek közötti kusza kereskedelmi kapcsolatok útján – sokszor behurcolták hajókon észak-amerikai őshonos élőhelyeiről Európa számos országba. Leginkább heremag-, burgonya- és gabona-szállítmányokkal érkezett (Pintye és Pál, 2005). Európában először 1863-ban jelezték a fajt, Magyarországon leginkább a második világháború után szaporodott el, majd a rendszerváltás utáni jelentős válto-

zások (nagy területű szántók felhagyása) járultak hozzá a faj inváziójához. A parlagfű esetén a virágok apró fészkekben fejlődnek, külön fészkekben a hím ivarú porzós virágok és külön fészkekben a termős, női ivarú virágok. A porzós fészkek, melyekben akár kétszáz nagyon apró, sárga virág is fejlődhet, a szár csúcsi részén hangarogcskák módjára lógnak. Ezek az apró virágok nagy mennyiségű pollent termelnek, melyet a szél szállíthat nagy távolságokra, akár 300 kilométerre is. A fészken belül a virágok egymást követően nyílnak, így a teljes növény több mint egy hónapig bocsáthat ki pollent. Egyetlen egyed így naponta akár egymillió pollenszemet is termelhet (Szigetvári és Benkő, 2004).

A parlagfű egyéves növény, magassága 20–200 cm-ig terjed, dúsán elágazó, terebélyes, levelei szeldeltek és jellegzetes illatúak. Gyakorlatlan szemek összetéveszthetők a hasonló termetű és levél-alakú fekete ürömmel (*Artemisia vulgaris*). Nincs speciális terjesztési mechanizmusa, főleg az ember segíti elő terjedését, fertőzött vetőmaggal, földdel, sárral, járművekkel hurcolják szét a magokat. Nagyon gyakran a mezőgazdasági termékek szállítási útvonalai mentén, elsősorban útszéleken és vasúti töltések mentén terjed. Tömeges megjelenésére lehet számítani szinte az összes termesztett növénykultúrában (Magyarországon az első számú gyomnövényé lépett elő az utolsó 20 évben). A kapás-kultúrák kiemelten veszélyeztetettek (főleg a napraforgó-táblák), de gabona és kukoricaföldeken is gyakran jelentkezik. Fiatal parlagok domináns faja, mely gátolhatja, lassíthatja a területek regenerációját. Jobbára kedvezeli a zavart helyeket, nagyon gyorsan feltűnik szinte minden bolygatott élőhelyen, legyen az fiatal parlag, építkezés vagy bármilyen más emberi tevékenység által megzavart élőhely (Szigetvári és Benkő, 2004).

Elterjedéséhez a környezeti tényezőkkel szembeni (hőmérséklet, csapadék, talaj-típus, a talaj kémhatása) széles tűrőképessége is hozzájárul. Erős, mélyre hatoló gyökérzetével akár a szélsőségesen száraz talajokon is előfordul. Extrém gyorsan alakít ki gyomirtó szerekekkel szembeni rezisztenciát, ezért terjed olyan gyorsan a mezőgazdasági területeken (Szigetvári és Benkő, 2004). Rendelkezik allelopatikus anyagokkal, melyek gátolják vagy negatívan hatnak számos őshonos növény (közöttük sok termesztett növény) csírázására. Erős kompetitor: azokban a közösségekben, ahol előfordul, negatívan hat a többi növényfaj növekedésére, míg azok nem befolyásolják jelentősen az ő fejlődését (Holzner és Numatan, 1982). Ata et al. (2007) az *Ambrosia psilostachya* fajból izoláltak két új szterol típusú vegyületet, ezek az ambrosinal A és az ambrosinal B. Ez a két vegyület 25 µg/ml dózisonál gyenge, míg 50 µg/ml dózis fölött erős antibakteriális hatást mutatott az alábbi humánpatogén fajokkal szemben: *Streptococcus*

pyogenes, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium xerosis* és a *Bacillus subtilis*. Solujić et al. (2008) a parlagfű pollen acetonos kivonatának antimikrobiális és genotoxikus hatásait vizsgálták. Két laktont azonosítottak: az ambrosint és az artesovint. Az antibakteriális hatást tíz különböző baktériumfajon tesztelték korongdiffúziós és mikrodilúciós módszerekkel. A minimális gátló koncentrációja a kivonatnak 1,25–6,50 mg/ml közt változott. A genotoxikus hatást *Drosophila melanogaster* eukarióta modellszervezeten tesztelték. De Leo et al. (2010) az *Ambrosia arborescens* leveléből izoláltak négy szeszkviterpén és két diterpén vegyületet, melyeknek sejtproliferáció gátló hatása van. Kuba keleti részén különböző gyógyövénykeverékek alkotója a parlagfű (Cano és Volpato, 2003).

A parlagfű nagyon termékeny: nemcsak rengeteg pollent termel, de a maghozama is jelentős. A felső levelek hónaljában fejlődő egy magvú termések száma egyedenként átlagosan 3000–4000 mag. A magok jelentős százaléka életképes, tehát a következő tavasszal egyetlen egyednek akár 4000 utóda is lehet. A magvak rendkívül hosszú életűek, akár 30 évig is megőrzik csíráképességüket a talajban. Bolygatás hatására, megfelelő körülmények között, tömegesen kezdenek el csírázni, akár olyan helyen is, ahol előzőleg nem észleltük őket (Szigetvári és Benkő, 2004).

Alternaria alternata

Az *Alternaria alternata* tulajdonképpen egy levélfoltosságot okozó gombafaj, amely a növényekre való káros hatásain felül az egyik legfontosabb okozója az emberi asztmának és felső légúti betegségeknek is. A gomba a lakásokban is gyakorta előfordul, a tapétán, szőnyegekben, bútorokon és a szobanövényeken. A lakásban való elterjedtsége a beltéri levegő páratartalmával és hőmérsékletével van szoros összefüggésben: a magas páratartalom, és a meleg serkentik a növekedését. Nagyjából 44 ismert faja létezik, közöttük is a legelterjedtebb az *Alternaria alternata* (korábbi nevén *Alternaria tenuis*). Számos egészségügyi problémát okozhat, beleértve az allergiákat, szem és légúti irritációkat is (köhögőrohamok, dermatitist és kötőhártyagyulladás). Különösen a gyermeket érintik ezek a problémák. A gomba megjelenése szezonális, a szabadban július és szeptember között legmagasabb koncentrációja, de fontos viszont kiemelni, hogy beltérben a gomba spórái jelen lehetnek egész évben. Különösen a szűk helyeken és a sarkokban fordulhatnak elő (Sipka, 2009). Az *Alternaria* genusban a legjelentősebb toxintermelő faj az *A. alternata*. Termel alternariol-monometilétert, altenuent, altenuiszolt, tenuazonsavat és alternariolt (Érsek és Gáborjáni, 1998). A tentoxin pedig a csíranövényeket támadja: sárgulást és elhalást okoz (Glits et al., 1997).

Alternariás bogyo- és magházpenészedés

A fertőzés növényi maradványokban marad fenn (konídium vagy micélium). Magok is közvetíthetik, a magoncokat is károsíthatja. A spórák a bibeszálon, vagy annak maradványain keresztül, illetve sebeket át

jutnak a növényi szervezetbe. A fertőzés tünetei a bogyókon jelentkeznek. Először sötétszürke, nekrotikus foltok jelennek meg a magház belső részén, a maglécen és a magokon. A magházon kis, szabálytalan alakú sebek láthatók. A bogyo húsa keserű ízű lesz, rothad, mumifikálódik (Érsek és Gáborjáni, 1998) (1. ábra).

1. ábra: Az *Alternaria alternata* által okozott tünetek



Figure 1: Symptoms caused by the *Alternaria alternata*

ANYAG ÉS MÓDSZER

A kiszáritott növényi darálékból alkoholos extrakcióval vontuk ki a hatóanyagot (Raynie, 2000). Az értékes oldászerkeket vákuum desztillációs készülékkel nyertük vissza. A kinyert parlagfű extraktum sötétzöld, enyhén olajos állagú, erős illatú folyadék lett.

Mikrobiológiai vizsgálatok

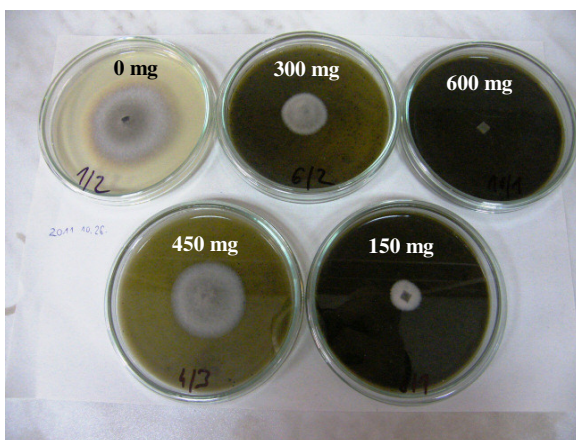
A parlagfűből készült extraktumok mikroorganizmusok növekedésére gyakorolt hatását teszteltük a laboratóriumi kísérleteinkben. A tenyésztéseket lemezöntéssel eljárással végeztük. A vizsgálatok során a táptalajokhoz – 15 cm³ burgonya-dextróz agar (PDA – Potato dextrose agar) Petri-csészénként – az extraktumból készített 10%-os, 20%-os és 30%-os törzsoldatokból adagoltunk különböző mennyiségeket. Így Petri-csészénként a táptalaj 0 mg, 150 mg, 300 mg, 450 mg, 525 mg és 600 mg kivonatot tartalmazott, ily módon a „mérgeztet agar” módszerrel vizsgáltuk a parlagfű kivonat gátló hatását az *Alternaria alternata*-ra (Szabó et al., 2010). Az *Alternaria alternata* F00750 törzs a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből (MIMNG) származik.

A inkubálás sötétben, 22 °C-on történt. Minden esetben 5 párhuzamos leoltást készítettünk.

EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

Vizsgálataink alapján elmondható, hogy az *Alternaria alternata* gyorsan fejlődött burgonya-dextróz kontroll agaron. Ez annak is köszönhető, hogy 10%-os tejsav adagolásával segítettük a gombák növekedését.

A 2. ábrán látható, hogy a különböző mennyiségű parlagfű extraktummal „mérgeztet” táptalajokon a gomba eltérő fejlettséget mutat.

2. ábra: *Alternaria alternata* telepek a leoltás után 8 nappal

Megjegyzés: A PDA táptalajok Petri-csészéként különböző mennyiségben tartalmaznak parlagfű kivonatot.

Figure 2: *Alternaria alternata* 8 days after the inoculation
Note: The PDA mediums in Petri dishes containing different amounts of ragweed extract.

A gombatelepek átlagos átmérőjét a különböző kezelésekben a 3. ábrán mutatjuk be. Jól látható, hogy az adott kísérleti körülmények mellett a gombatelepek két nap alatt fejlődtek ki a gátló anyagot nem tartalmazó táptalajon, valamint a 150 mg-os dózis mellett is. A 150 mg dózis csak a megfigyelés első felében lassította a gomba növekedését, a második hét végére (a 14. nap körül) az átlagos telepátmérők már közel azonosak voltak a kontrollonál mért értékekkel. A növényi hatóanyag mennyiségét 300 ill. 450 mg-ra növelve már csak 3 nap, illetve 6 nap elteltével jelentek meg a gombatelepek. Igen biztató az a tény, hogy az egy hónapos megfigyelésünk végére sem indult be a növekedés 525 mg és 600 mg kivonat mellett sem.

Az adatokat többváltozós regresszió analízis segítségével is elemeztük (Sajtos és Mitev, 2007). Az analízis során a telepek átmérője, mint egyetlen függő és a parlagfű kivonat mennyisége, ill. az eltelt napok száma, mint független változók közötti kapcsolatot vizsgáltuk. Az előfeltételek teljesülésének ellenőrzése után megvizsgáltuk, hogy a független változók kapcsolatban vannak-e a függő változóval, valamint hogy ez a kapcsolat milyen szoros. A korrelációs mátrix alapján azt tapasztaltuk, hogy a telepek átmérője és a kivonat mennyisége között viszonylag erős negatív irányú,

míg a telepek átmérője és az eltelt napok száma között közepesen erős pozitív irányú a kapcsolat. A két független változó között pedig nem áll fenn kapcsolat, azaz nem beszélhetünk multikollinearitásról. A modellünk magyarázó ereje viszonylag nagy, hiszen a korrelációs együttható négyzetének az értéke 0,718 ($R^2=0,718$), azaz a telepek átmérője erősen függ a parlagfű kivonat mennyiségétől és a leoltástól eltelt napok számától.

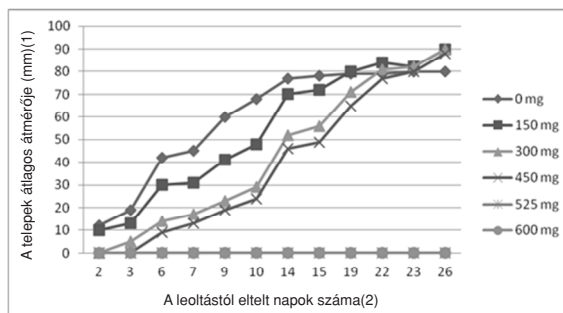
3. ábra: Az *Alternaria alternata* telepek növekedése

Figure 3: Growing of the *Alternaria alternata* colonies
Average diameters of colonies (mm)(1), Number of days after inoculation(2)

A regressziós analízis eredménye alapján a következő modellt állíthatjuk fel:

telep átmérője = $37,089 - 0,103 \cdot \text{parlagfű kiv. mennyisége} + 2,351 \cdot \text{eltelt napok száma}$.

Eredményeink szerint a parlagfű olyan biológiailag aktív anyagokat tartalmaz, amelyek a növényi hatóanyag koncentrációjától függően gátolják az *Alternaria alternata* F00750 törzs növekedését. A legkisebb hatékony koncentráció 300 mg kivonat/Petri-csésze volt, amely 3 napig gátolta a gomba növekedését. Az utóbbi kezelésekben érvényesült a fungicid hatás. Teljesértékű fungicidnek bizonyult a táptalajunk 525 mg és 600 mg-os dózis mellett. Az ürömlélő parlagfű a legtöbb gondot okozó gyomnövényünk. Fontosnak tartjuk a növényből kivont hatóanyag biológiai tulajdonságainak tanulmányozását. A dolgozatban is bizonyított antifungális tulajdonságát kihasználva pl. a növényvédelemben, jelentősen hozzájárulhatunk a parlagfű okozta egészségügyi, mezőgazdasági és környezetvédelmi károk csökkentéséhez.

IRODALOM

- Ata, A.–Diduck, C.–Udenigwe, C.C.–Zahid, S.–Decken, A. (2007): New chemical constituents of *Ambrosia psilostachya*. General Papers. USA.
- Cano, J.H.–Volpato, G. (2003): Herbal mixtures in the traditional medicine of Eastern Cuba. *Journal of Ethnopharmacology*. 90: 293–316.
- De Leo, M.–Saltos, M.B.V.–Puente, B.F.N.–De Tomassi, N.–Braca, A. (2010): Sesquiterpenes and diterpenes from *Ambrosia arborescens*. *Phytochemistry*. USA.
- Érsek T.–Gáborjányi R. (1998): Növénykórokozó mikroorganizmusok. ELTE. Eötvös Kiadó. Budapest.
- Glits M.–Horváth J.–Kuroli G.–Petróczi I. (1997): Növényvédelem. Mezőgazda Kiadó. Budapest.
- Holzner, W.–Numatan, M. (1982): Biology and ecology of weeds – Geobotany 2. Hague. Netherlands.
- Pintye Gy.–Pál R. (2005): Gyomnövényeink eredete, termőhelye és védelme. Alexandra Kiadó. Pécs.
- Raynie, D.E. (2000): Extraction. [In: Cooke, M.–Poole C.F. (eds.) *Encyclopedia of Separation Science*.] Academic Press. 118–128.
- Sajtos L.–Mitev A. (2007): SPSS kutatási és adatelemzési kézikönyv. Alinea Kiadó. Budapest. 203–243.

- Sipka S. (2009): Az allergiás betegségek diagnosztikájának in vitro laboratóriumi módszerei. Immunológia előadás. DE OEC. Debrecen.
- Solujic, S.–Sukdolak, S.–Vuković, N.–Nićiforović, N.–Stanić, S. (2008): Chemical composition and biological activity of the acetone extract of *Ambrosia artemisiifolia* L. pollen. Journal of the Serbian Chemical Society. 73. 11: 1039–1049.
- Szabó A.–Keresztúri P.–Szigeti Zs.–Peles F.Á. (2010): Mikrobiológiai praktikum. Debreceni Egyetem AMTC. Debrecen. 37–41.
- Szigetvári Cs.–Benkő Zs.R. (2004): Ürömlevelű parlagfű (*Ambrosia artemisiifolia* L.). [In: Mihály B.–Botta-Dukát Z. (szerk.) Biológiai inváziók Magyarországon. Özönnövények. Természetbúvár Alapítvány Kiadó. Budapest. 337–370.