

**BUDAPESTI CORVINUS EGYETEM
KERTÉSZETTUDOMÁNYI KAR
NÖVÉNYKÓRTANI TANSZÉK**

Tudományos diákköri dolgozat

Új adatok a platán apiognomóniás betegségéhez

Lohonyai Zsófia

Növényorvos MSc II. évfolyam

Konzulensek:

Dr. Petróczy Marietta egyetemi adjunktus

Dr. Palkovics László tanszékvezető egyetemi tanár



Budapest, 2013

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	4
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	6
2.1 A kórokozó rendszertani besorolása és elnevezése	6
2.2 A kórokozó földrajzi elterjedése	7
2.3 Jelentősége	7
2.4 A kórokozó gazdanövényköre és azok fogékonysága	8
2.5 A betegség tünetei	10
2.6 A kórokozó biológiája, a betegség lefolyása	12
2.7 Az időjárás hatása a kórokozóra	12
2.8 Védekezés	13
2.9 A kórokozó ivaros és ivartalan alakjának morfológiai jellemzői	14
2.10 A kórokozó tiszta tenyészetének morfológiai jellemzői	16
2.11 Az <i>Apiognomonía veneta</i> kórokozó molekuláris azonosítása	17
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	18
3.1. A vizsgálat helye és ideje	18
3.2. A vizsgálat anyaga	18
3.2.1 A vizsgált kórokozó	18
3.2.2 A vizsgált növények	18
3.2.3 Izolátumok	18
3.2.4 Táptalajok, vegyszerek	19
3.2.5 Indítószekvenciák (primerek)	19

3.2.6 Eszközök	19
3.3. A vizsgálat módszere	20
3.3.1 A tünetek leírása és a kártétel felmérése	20
3.3.2 Mintagyűjtés, a kórokozó izolálása és a tenyészetek fenntartása	21
3.3.3 A kórokozó morfológiai bélyegeinek vizsgálata	21
3.3.4 A kórokozó tenyészbélyegeinek vizsgálata	21
3.3.5 Patogenitási teszt	22
3.3.6 Molekuláris vizsgálatok	22
4. EREDMÉNYEK	25
4.1 A betegség tüneteinek jellemzése	25
4.2 Az <i>Apiognomonia veneta</i> okozta kártétel felvételezése a kijelölt helyszíneken	27
4.2.1 Az idősebb juharlevelű platánfa Székesfehérváron	27
4.2.2 A fiatalabb juharlevelű platán Székesfehérváron	28
4.2.3 A keleti, a nyugati és a juharlevelű platán a Budai Arborétumban	28
4.2.4 Juharlevelű platánok a Feneketlen tónál	30
4.3 <i>Apiognomonia veneta</i> izolátumok morfológiai és tenyészbélyegei	32
4.3.1 Az <i>Apiognomonia veneta</i> izolátumok morfológiai jellemzői	32
4.3.2 Az <i>Apiognomonia veneta</i> izolálása és tenyészbélyegeinek jellemzői	33
4.4 Patogenitási teszt	34
4.5 Molekuláris vizsgálatok	36
5. KÖVETKEZTETÉSEK	37
6. ÖSSZEFOGLALÁS	39
7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	41
8. IRODALOMJEGYZÉK	42

1. BEVEZETÉS

A platánfa gyorsan növekvő, könnyen szaporítható fa, amelyből kiváló minőségű, egyenes, jól megmunkálható farönkök készíthetők. Gyorsabban nő, nagyobb területen, kevésbé intenzív gazdálkodással termesztethető, mint a legtöbb keményfa faj (**Seifers és Ammon, 1980**). A legnépszerűbb platánfajok a *Platanus acerifolia* Aiton (Willd.) (közönséges vagy juharlevelű platán), *Platanus orientalis* L. (keleti platán) és a *Platanus occidentalis* L. (nyugati platán). A juharlevelű platán viszonylag jól ellenáll a környezet negatív hatásainak, tolerálja az erős metszést és a városi levegőt, ezért a legnépszerűbb sorfák közé tartozik. A nyugati platánt leginkább díszfaként ültetik, főleg parkokban, kertekben, de hazájában, Amerikában az építőipar is felhasználja. A keleti platánt szintén a díszítőértékéért ültetik, fáját nagyon ritkán használják fel más célokra. Hazánkban is számos híres platánsor található országszerte. Az egri termálfürdő területén élő keleti platánfa (**1. ábra**) 2013-ban pedig megnyerte az 'Európai Év Fája' versenyt Brüsszelben.



1. ábra: Az év fája Európában 2013-ban

(Forrás: http://hvg.hu/nagyitas/20130301_fotok_egri_platan_az_Ev_Faja_Europaban)

A szakemberek egyre növekvő aggodalommal figyelik a platán apiognomóniás betegségének tüneteit hazánkban. Az *Apiognomonina veneta* által megbetegített fákon lassan alakulnak ki a tünetek. A beteg fák még hosszú ideig (évekig, évtizedekig) életképesek, azonban a fertőzés után már 3-4 évvel jelentősen csökken a díszítőértékük. A tavaszi

levélhullással, a nekrotizálódó erekkel, száradó levelekkel és az ágak elhalásával országszerte találkozhatunk. A tünetek súlyosbodásához az is hozzájárul, hogy a járművek által kibocsátott mérgező gázok gyengítik a platánok kondícióját, a növényeknek csökken az ellenálló képessége.

Az Andrássy út platánfái olyan súlyosan fertőzöttek voltak az apiognomóniás betegség kórokozójával, hogy a veszélyessé váló fák kivágása utáni újratelepítés is sikertelen volt a visszafertőződés miatt. Végül is 2005-ben az összeset kivágták, helyükre pedig kőrisfákat telepítettek.

A hazai szakirodalmak elsősorban a tünetekkel és a kórokozó morfológiai tulajdonságaival foglalkoznak, a gomba tenyészbélyegeire vonatkozóan csak egy-egy külföldi forrásban találtam utalást. A nemzetközi NCBI (National Center for Biotechnology Information) adatbázisba is mindösszesen két külföldi izolátum szekvencia adatait töltötték fel az ITS (Internal Transcribed Spacer) régióból.

Ezért dolgozatomban az alábbi célkitűzéseket fogalmaztam meg:

- négy különböző helyszínen a kártétel mértékének megállapítása,
- a kórokozó morfológiai tulajdonságainak és tenyészbélyegeinek jellemzése,
- a kórokozó molekuláris azonosítása és jellemzése polimeráz láncreakcióval az ITS régió szekvenciája alapján.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A kórokozó rendszertani besorolása és elnevezése

Az *Apiognomonia veneta* a peritéciumos gombák csoportjába tartozik, az Ascomycota rend, Diaporthales osztályának Gnomoniaceae (Valsaceae) családjába. A Gnomoniaceae család három alcsaládot foglal magába, melyek közül az egyik a Gnomonioideae. A Gnomonioideae alcsaládot négy nemzetség (*Apiognomonia*, *Gnomonia*, *Gnomoniella*, *Ophiognomonia*) fajai alkotják (Kövics, 2000; Momčilo és mtsai., 2005; Sogonov és mtsai., 2008).

A kórokozó ivaros alakjának legitim neve: *Apiognomonia veneta* (Sacc. et Speg.) Höhnelt (Farr és Rossmann, 2013).

Szinonim elnevezései:

- *Apiospora veneta* (Sacc. et Speg.) Sacc. ex. Kleb
- *Gnomonia platani* (Sacc. et Speg.) Kleb.
- *Gnomonia veneta* (Sacc. et Speg.) Kleb.
- *Guignardia veneta* (Sacc. et Speg.) Traverso (Farr és Rossmann, 2013; Index Fungorum, 2013).

Bár a rendszertan és nevezéktan legújabb iránya szerint már nem jelöljük meg külön névvel az ivartalan alakot, az USDA (United States Department of Agriculture) adatbázis szerint a kórokozó ivartalan alakjának legitim neve: *Discula nervisequa* (Fuckel) M. Morelet

Szinonim elnevezései:

- *Fusarium nervisequum* Fuckel
- *Gloeosporium nervisequum* (Fuckel) Sacc.
- *Discula platani* Sacc.
- *Discella platani* Oudem.
- *Gloeosporium platani* Oudem.
- *Gloeosporidium platani* (Lév.) Höhm.
- *Fusarium platani* Mont.
- *Fusarium nervisequum platani* (Lév.) Fuckel
- *Hymenula platani* Lév. (Klebahn, 1908; Farr és Rossmann, 2013; Index Fungorum, 2013).

2.2. A kórokozó földrajzi elterjedése

A betegség a *Platanus* nemzetség valamennyi élőhelyén előfordul, ezen belül is a mérsékeltövi régiókban különösen gyakori (**Santamour, 1976; Garibaldi, 1990**).

Magyarországon elsőként Schilberszky Károly professzor figyelt fel a betegségre az 1900-as évek elején (**Ubrizsy, 1965**). Később **Hollós (1913)** Kecskemét környékén találta meg a tüneteit, majd **Moesz (1942)** hívta fel a figyelmet a gomba terjedésére a margitszigeti platánfákon.

Európán belül még Ausztriában (**Tomiczek, 1999**), Bulgáriában, a Cseh Köztársaságban, Franciaországban, Lengyelországban, Németországban, Norvégiában és Olaszországban okoz megbetegedéseket (**Sogonov és mtsai., 2007; 2008**). Spanyolországból (**Sagasta és Aspeitia, 1975**) és Svájcban (**Von-Sury és Fluckiger, 1991**) szintén leírták a betegséget. Szlovéniában (**Milevoj és Kravanja, 1999**) és Törökországban (**Farr és Rossmann, 2013**) szintén súlyos károkat okoz a gomba. Angliában is országszerte találkozhatunk az apiognomóniás betegség tüneteivel (**Milne és Hudson, 1987**).

Jelezték továbbá a kórokozó megjelenését Új-Zélandról, Kanadából, Ausztráliából, Chiléből (**Sogonov és mtsai., 2007; 2008**), Argentínából (**Milne és Hudson, 1987**) és Dél-Afrikából (**Swart és mtsai., 1990**). Az USA számos tagállamában (California, Connecticut, Delaware, Iowa, Maryland, Massachusetts, Michigan, New Jersey, New York, Pennsylvania, Ohio, Tennessee, Washington, West Virginia, Wisconsin) is elterjedt már a kórokozó (**Sogonov és mtsai., 2007**).

2.3 Jelentősége

Agrios (1997) a platán legjelentősebb kórokozójaként említi a gombát. A kórokozó főként a parkokba, utcai sorfaként ültetett, valamint a faiskolákban nevelt platánfákon egyaránt megjelenik. A betegség súlyos károkat okoz, előfordulhat, hogy nyár elejére csaknem az összes levél lehullik (**Folk, 2000**).

Illinois államban 1952-ben, 1954-ben, majd 1961-ben súlyos veszteséget okozott a kórokozó fellépése. 1970 tavaszán a Mississippi néhány területén 75%-os lombhullást is megfigyeltek. Az Erdészeti Szolgálat 1977-ben felmérte a platán állományok egészségi állapotát, és arra az eredményre jutottak, hogy 45%-a teljesen kipusztult és a fák 100%-a mutatott valamilyen szintű lombvesztést (**Seifers és Ammon, 1980**).

Franciaországban (**Vigouroux, 1986**) és Németországban (**Rathke, 1978**) is komoly lombhullást okozott a betegség. Spanyolországban vizsgálták, hogy melyek a platán legfontosabb, illetve legsúlyosabb betegségei. Arra jutottak, hogy a lisztharmat és az apiognomóniás betegség okozza a legnagyobb károkat (**Tello és mtsai., 2000**).

Magyarországon, Veszprém megyében több esetben megfigyelték, hogy hullanak a platánfák levelei. A Veszprém Megyei Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal Növény- és Talajvédelmi Igazgatósága megállapította, hogy az *Apiognomonia veneta* felelős a tünetekért (**Varga, 2008**). **Koltay (2005)** a magyarországi erdők egészségi állapotát vizsgálva, felmérte az egyes betegségek és kártevők elterjedését. Megállapította, hogy az *Apiognomonia veneta* okozta fertőzés következtében annyira legyengülnek a növények, hogy a betegség más károsítókkal együtt (pl. platán csipkésposloska) a fák teljes pusztulásához vezethet.

A fák egészségi állapotának leromlásához a gépkocsik okozta légszennyeződés, városok rossz talaj fizikai és kémiai tulajdonságai is hozzájárulnak (**Gibbs és Burdekin, 1983**). A szerzők megfigyelései alapján a városok legbetegabb platánfái a forgalmas utak mentén találhatók.

2.4 A kórokozó gazdanövényei és azok fogékonysága

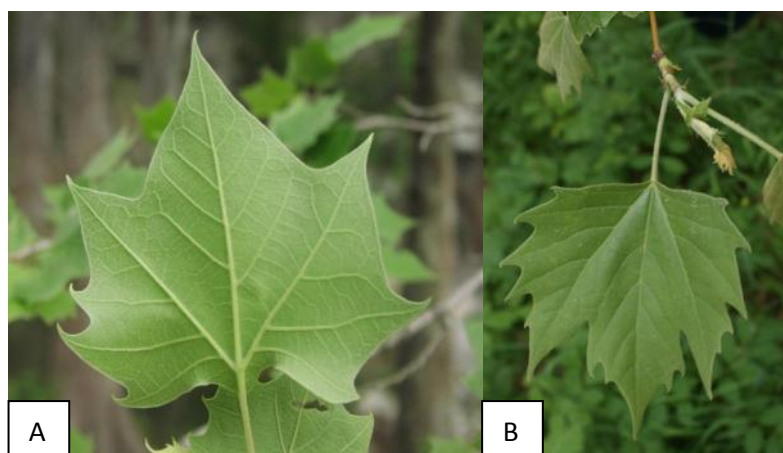
A gomba elsősorban a *Platanus* nemzetségbe tartozó növényeken okoz tüneteket (**Farr és Rossmann, 2013**), de egy alkalommal leírták hársra való megjelenését is (**Sogonov és mtsai., 2007**). **Ubrizsy (1965)** szerint a kórokozó a *Platanus* nemzetség összes fáján megjelenhet, de a fajok fogékonysága eltérő.

Santamour (1976), valamint **Momčilo és mtsai. (2005)** szerint a *Platanus occidentalis* (nyugati platán) a legfogékonyabb faj (**2./A ábra**). Származási helye Amerika déli és keleti része, ahol a magassága meghaladhatja az 50 m-t. A hűvös fekvésű helyeket kedveli, természetes élőhelyén mélyfekvésű talajon, tavak, folyók mentén található meg (**Horánszky, 2001**).

Horánszky (2001) szerint a *Platanus acerifolia* (közönséges vagy juharlevelű platán) kevésbé fogékony, mint a nyugati platán (**2./B ábra**). Származása a szakemberek többsége szerint európai, a 17. században a nyugati platán és a keleti platán kereszteződésével jött létre. Magassága eléri a 40 m-t. Minden talajon fenn tud maradni. Európa egész területén megtalálható. Magyarországon ez a platánfaj a legelterjedtebb (**Tóth, 1969**). Kaliforniában

Svihra és McCain (1992) vizsgálták a fajták fogékonyágát. A legfogékonyabbnak a 'Saratoga 86-336-C', a legellenállóbbnak a 'Bloodgood' fajta bizonyult.

A *Platanus orientalis* (keleti platán) a három faj közül a legellenállóbb a betegséggel szemben (**3. ábra**). Származási helye a Földközi-tenger keleti partja és Nyugat-Ázsia. Általában 40 m magasra nő. A védett helyeket kedveli, ahol a tél enyhe és csapadékos, a nyár pedig száraz. Főként a mediterrán területeken fordul elő, parkokban, kertekben találkozhatunk vele. Leginkább Dél-Itáliában, Szicíliában, Görögországban, Törökországban, Közép-Keleten terjedt el (**Horánszky, 2001**).



2. ábra: A nyugati (A) és a juharlevelű (B) platán levele

(Forrás /A/: http://www.sbs.utexas.edu/bio406d/images/pics/plt/platanus_occidentalis.htm)

(Forrás /B/: <http://novenyhatarozo.info/noveny/kozonseges-platan.html>)



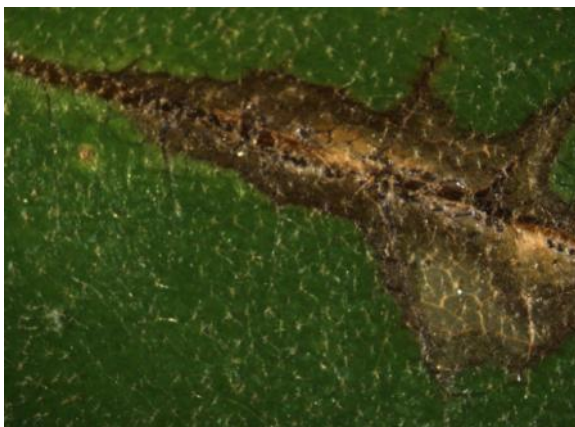
3. ábra: A keleti platán levele

(Forrás: http://en.wikipedia.org/wiki/File:Platanus_orientalis_foliage_Partenit.jpg)

2.5 A betegség tünetei

A jellegzetes tünetek a leveleken, hajtásokon, idősebb fás részeken, törzsön és a rügyeken figyelhetők meg (**Folk, 2000**).

Wittmann és Fickert (1988) és **Monteccio (2000)** szerint fiatal leveleken erek menti barnulás (**4. ábra**), majd élesen körülhatárolt, elhaló foltok jelennek meg (**Pirone, 1970**). Amikor az elhalt részek összeérnek, az egész levél elszárad, majd idő előtt lehullik (**Berry, 1985**). Ha a fiatal leveleket a gomba nem pusztítja el, akkor azok torz alakban fejlődnek az egészséges és a fertőzött rész közötti egyenetlen növekedés miatt. A növekedésben lévő levélnyeleken barna, besüppedő foltok alakulnak ki, a foltok mentén a levélnyél megtörik, és a levél lehullik (**Barret és Pearce, 1981; Folk, 2000**). Ha a lombhullás tavasszal vagy nyár elején jelentkezik, akkor a fa általában új leveleket növeszt (**Griegel, 2003**).



4. ábra: Érmenti barnulás juharlevelű platán levelén

(Fotó: Lohonyai, 2012)

Az idős levelek esetében is megfigyelhető az érbarnulás (**Cellerino és Anselmi, 1978**), de sokkal kisebb mértékben, mint a fiatal leveleken. Az erek mentén a levéllemez megsárgul, elbarnul, majd elszárad (**Pirone, 1970**). A levél elhalt része kitérőredezik, de csak ritkán hullik le (**Folk, 2000**).

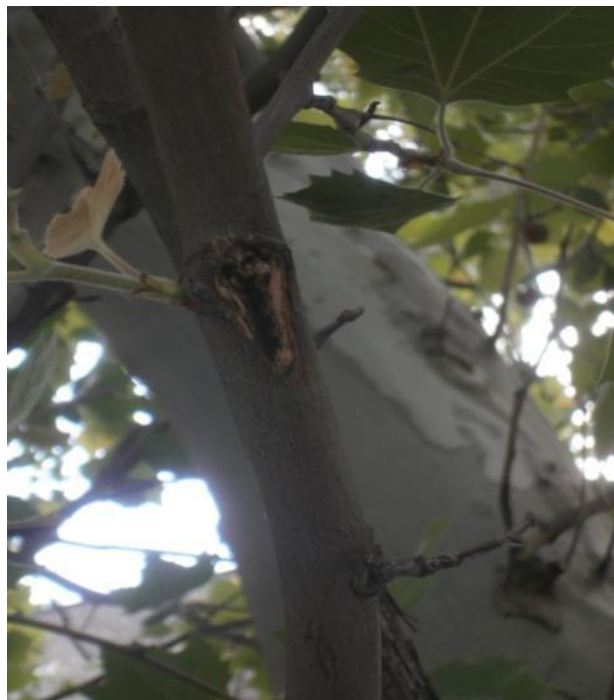
Griegel (2003) szerint csapadékos időben a fiatal hajtáscsúcsok elszáradnak (**5. ábra**). **Agrios (1997)** szerint a hajtásvég elhalását gyakran tévesen a fagynak tulajdonítják. A hajtásokon tavasszal besüppedő barna foltok keletkeznek, melyek körbeérik a hajtást. A hajtás végül eltörik és a levelekkel együtt elszárad. A leveleken és a hajtásokon is megjelennek a pontszerű, fekete acervuluszok (**Berry, 1985**). Az elhalt hajtások a fán maradnak, vagy lehullanak (**Pirone, 1970**).



5. ábra: *Apiognomonia veneta* okozta hajtáselhalás juharlevelű platánon

(Fotó: Lohonyai, 2012)

A fiatal fás részeken a tünetek tavasszal jelentkeznek. Miután az egyéves vesszők elpusztulnak, a gomba kicsi, fekete termőteste hamar áttöri az elhalt vesszők felszínét (**Berry, 1985**). A idősebb fás részeken és a törzsön, ovális, érdes felületű, fakó foltok alakulnak ki, melyeket nehéz észrevenni (**Agrios, 1997, Folk, 2000**). Ezeken a fás részeken nyílt sebek alakulnak ki, amelyek nem gyógyulnak be (**6. ábra**). A sebek feletti növényrészek elhalnak (**Folk, 2000**).



6. ábra: Nyílt seb juharlevelű platánon

(Fotó: Lohonyai, 2012)

A betegség tüneteit tavasszal a rügyeken is megfigyelhetjük. Ha az elhalt részek körülölelik a rügyet, a rügy elpusztul **(Berry, 1985)**.

2.6 A kórokozó biológiája, a betegség lefolyása

A kórokozó fertőzési forrásai a talajra hullott levelek és a fertőzött fás részek, ahol a kórokozó micéliummal, acervulusszal és éretlen peritéciumokkal telel át **(Pirone, 1970)**. Az aszkospórák és a konídiumok rügypattanás után fertőzik a növényeket. Az aszkospórák április és június között folyamatosan szóródnak szét **(Agrios, 1997)**. A spórák széllel és esőcseppekkel terjedve jutnak a szomszédos fák fiatal, növekvő leveleire és hajtásaira **(Momčilo és mtsai., 2005)**. A nedves időjárás mellett a spórák csíráznak és a gomba behatol a növénybe **(Berry, 1985)**. Nyáron a fertőzött részeken kialakuló acervulusokban kifejlődő konídiumok fertőznek **(Cellerino és Anselmi, 1978)**. A kórokozó a fás részeket sebeken keresztül fertőzi meg, a hajtásokat pedig légzőnyílásokon át **(Agrios, 1997)**.

2.7 Az időjárás hatása a kórokozóra

Az időjárási feltételek határozzák meg a fertőzés gyakoriságát és erősségét. **Cellerino és Anselmi (1978)** valamint **Agrios (1997)** megfigyelései szerint a kórokozó felszaporodásának és fertőzésének a hűvös, csapadékos időjárás kedvez. **Neely és Himelick (1963)** szerint a hőmérséklet befolyásolja leginkább a kórokozó terjedését. **Berry (1985)** alapján a betegség súlyossága a márciusi és áprilisi hőmérséklettel van összefüggésben. A szerző szerint a hajtáshervadás sokkal súlyosabb, ha az átlagos napi középhőmérséklet ez alatt az időszak alatt alacsony, 20 °C alatti marad. A 2-3 napig tartó meleg időszakok, amikor a napi hőmérséklet akár a 27 °C-ot is eléri, visszavetik a gombát a fejlődésben. **Piron (1970)** megfigyelései alapján, ha a napi átlaghőmérséklet 10-12,5 °C között van, nagyon súlyos kártételre számíthatunk.

Az aszkospórák és a konídiumok csírázásához és a levelekbe történő behatolásához nedves időjárásra van szükség. Ha az év meleg és száraz, akkor a betegség nem, vagy csak kis mértékben jelenik meg **(Berry, 1985)**.

2.8 Védekezés

Az agrotechnikai eljárások közül az egyik legfontosabb, ellenállóbb fajok (pl. *Platanus orientalis*) és fajták használata (**Varga, 2008**). A fák jó kondíciójával, tápanyag utánpótlással és öntözéssel ellenállóbbá tehetők a kórokozóval szemben (**Berry, 1985; Agrios, 1997**). **Griegel (2003)** szerint fontos az ősszel lehullott leveleket eltávolítása a fa alól és elégetése, vagy más módon történő megsemmisítése. Nyáron, a betegség következtében idő előtt lehullott leveleket is tanácsos összegyűjteni (**Pirone, 1970**). Az elszáradt ágrészeket az egészséges részig ajánlatos lementszeni (**Agrios, 1997**). Az így keletkezett sebeket sebkezelő szerrel kenjük be (**Varga, 2008**). **Tello és mtsai. (2000)** az egészségügyi metszést javasolnak, amely során az összes fiatal hajtás és ág (3 éves korig) eltávolításra kerül. A ritkítás is gátolhatja a gomba terjedését azáltal, hogy elősegíti a lombzat eső utáni gyors felszáradását (**Berry, 1985**).

Magyarországon, közterületen a kórokozó ellen a Topas 100 EC (hatóanyag: penkonazol) fungicid használata engedélyezett, a faiskolában más fungicidek használatával is meg lehet előzni a betegség kialakulását. A réztartalmú szerekkel végzett lemosó permetezéssel mérsékelhető a kórokozó terjedése (**Varga, 2008**). **Berry (1985)** a bordói lé használatát javasolja számos gyümölcs- és díszfa, így a platán esetében is. **Varga (2008)** szerint a kreloxim-metil, tebukonazol, tiofanát-metil hatóanyagú készítményekkel végzett permetezés eredményes és célravezető. **Agrios (1997)** szerint, ha a rügypattanástól kezdődően 2-4 alkalommal, 10-14 napos intervallumokban juttatunk ki réz-szulfát, cineb vagy klórtalonil hatóanyagú növényvédő szert, a betegség mérsékelhető. **Rathke (1978)**, illetve **Momčilo és mtsai. (2005)** a ditiokarbamátokat és benzimidazolekat javasolja védekezésre. **Cellerino és Anselmi (1978)** a kaptán, **Branzati és Marchetti (1980)** a mankoceb hatóanyag kijuttatását ajánlja a kórokozó ellen. Vizsgálataik során **Aloj és mtsai. (1993)** a proklorázt, **Wittmann és Fickert (1988)** a karbendazim hatóanyagot találták hatékonynak a gomba ellen.

Létezik egy most még ritkán alkalmazott módszer, amely hatékonyabb lehet a szokásos növényvédő szeres védekezéseknél: az endoterápia (**Pásztor Petra, 2012/a; 2012/b**). Az eljárás lényege, a fa belsejébe injektálják a növényvédő szert (**7. ábra**), amely a növényi nedvkeringés segítségével szétterjed a fa belsejében és mindenhol eljut. A fatörzsön fúró segítségével furatokat készítenek és ezekbe fecskendezik be a növényvédő szert, amely közvetlenül a törzsbe kerülve nem érintkezik a környezetével.



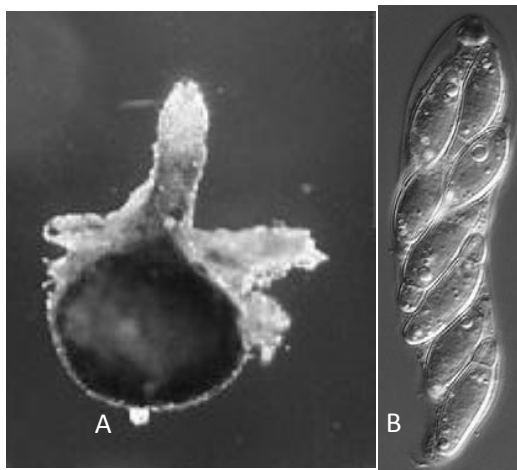
7. ábra: Az endoterápiás kezelés

(Forrás: Pásztor Petra, 2012)

A módszernek számos előnye van. A hasznos szervezetek nem károsodnak, a környezetbe sem jut ki, így azt nem veszélyezteti a járókelők egészségét. A kezelés bármikor elvégezhető, napszakhoz nem kötött. Az elsodródás veszélye sem áll fenn, így az eljárás elvégezhető iskolák, óvodák területén, utak mentén is. További előnye, hogy ezzel a módszerrel akár a tápanyag utánpótlás is megvalósítható. Hatékonysága sokáig fennmarad, egy évben elég egyszer végrehajtani. Akár egyetlen kezelés megoldja a fa védelmét egy teljes évig (Pásztor Petra, 2012/a; 2012/b).

2.9 A kórokozó ivaros és ivartalan alakjának morfológiai jellemzői

Az *Apiognomonia* nemzetség peritéciumai általában 5-15-ös csoportokban helyezkednek el, de a lehullott levelekben, levéllyegekben, vagy elhalt, de még a fákon maradt levelekben magányosan is állhatnak (Sogonov és mtsai., 2008). Sogonov és mtsai. (2007) szerint az *Apiognomonia veneta* sötétbarna vagy fekete peritéciumai elszórtan, egyenetlenül képződnek a levéllemezben. A lapított gömb alakú termőtestek (149-) 171-213 (-274) μm magasak és (152-) 202-284 (-362) μm átmérőjűek. A termőtest nyaki része centrális elhelyezkedésű (Bánhegyi és mtsai., 1985), egyenes, a tövénél fekete színű, a szájníylás felé kivilágosodó (Sogonov és mtsai., 2007). A peritéciumban képződő aszkuszkok hosszúkásak, melyekben nyolc orsó alakú, néha enyhén görbült, bazális végén lekerekített aszkospóra képződik (8. ábra). Az aszkospórák kétsejtűek, hialinok, méretük 12-16 x 4-6 μm (Bánhegyi és mtsai., 1985).



8. ábra: Az *Apiognomonia veneta* peritéciuma (A), aszkusza és aszkospórái (B)

(Forrás: Sogonov és mtsai., 2007)

A kórokozó ivartalan (anamorf alakja) acervuluszban képző konídiumait (**Griegel, 2003**). Az acervuluszok szürkésbarnák, majdnem fekete színűek (**9. ábra**), általában ellipszis alakúak, párna-szerűek. Az acervuluszban található konídiumok ellipszis vagy ovális formájúak, egysejtűek, hialinok (**Barnet, 1956**). A méretükre vonatkozó szakirodalmi adatokat az **1. táblázat** tartalmazza.



9. ábra: Acervulusz a juharlevelű platán levélnyelén

(Fotó: Lohonyai, 2012)

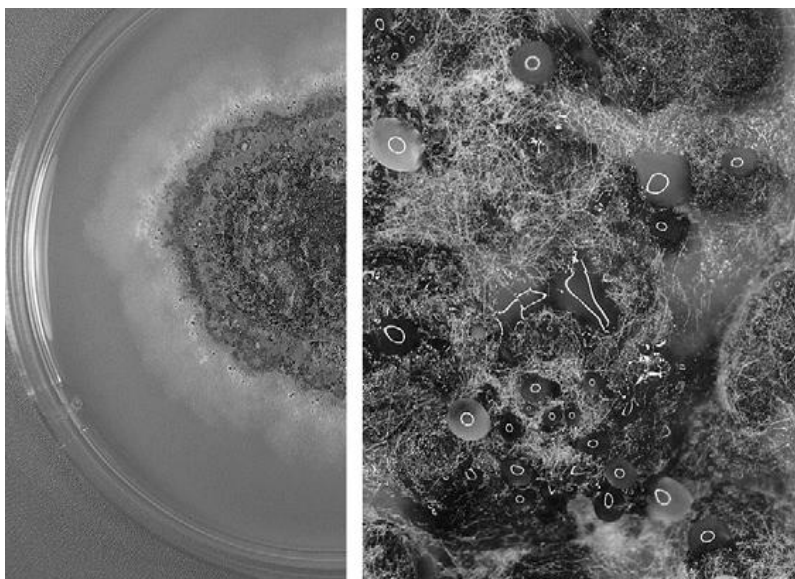
1. táblázat

A kórokozó konídium méretei

Hosszúság	Átmérő	Szerző(k)
7,5-20 μm	5-7,5 μm	Sogonov és mtsai., 2007
12-15 μm	4-6 μm	Ubrizsy és Vörös, 1968
12-15 μm	4-6 μm	Vörös, 1985

2.10 A kórokozó tiszta tenyészetének morfológiai jellemzői

Sogonov és mtsai. (2007) szerint a gomba tiszta tenyésze burgonya dextróz agar (PDA) táptalajon 21 napig 20 °C-on inkubálva, 12 órás mesterséges megvilágítás mellett 60-65 mm átmérőjű. A telepek felszínét vattaszerű légmicélium borítja. A tenyészetek fonáki része sötétbarna színű, esetenként világosabb színű pontok figyelhetők meg a telepek külső részén. Gyakori, hogy barnás vagy szürkés esetleg narancsos színű koncentrikus gyűrűzöttség jelenik meg a tenyészetekben. A újonnan izolált tenyészetekben számos fekete, szájnnyílás nélküli konídiumtelep képződik (**10. ábra**).



10. ábra: Az *Apiognomonia veneta* 17 napos tenyésze PDA táptalajon

(Forrás: Sogonov és mtsai., 2007)

2.11 Az *Apiognomonina veneta* kórokozó molekuláris azonosítása

A fonalas gombák molekuláris azonosítása során leggyakrabban a riboszómális RNS-eket kódoló DNS-en elhelyezkedő ITS (Internal Transcribed Spacer) régiókat vizsgálják. Ez a régió a következő részekből áll: 18S rDNS, ITS1, 5,8S rDNS, ITS2 és a 28S rDNS (**White és mtsai., 1990**). Az ITS régió kevésbé változékony, ezért lehetővé teszi univerzális primerek használatát, amelyek alkalmasak a fonalas gombák többségéből PCR (Polimerase Chain Reaction, Polimeráz láncreakció) segítségével ennek a régiónak az amplifikálását (**White és mtsai., 1990; O'Donnell, 1993**). **Sogonov és mtsai. (2007, 2008)** számos *Gnomoniaceae* családba tartozó faj, köztük az *Apiognomonina veneta* rokonsági viszonyait tárták fel a β -tubulin gént, az 1- α transzlációs elongációs faktort, az RNS polimeráz II második legnagyobb alegységét és az ITS régiót vizsgálva. **Mejía és mtsai. (2011)** szintén az előbb felsorolt régiókat vizsgálták többek között az *Apiognomonina veneta* kórokozó kapcsán is.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1 A vizsgálat helye és ideje

2012-ben és 2013-ban négy helyszínen mértem fel a kártétel mértékét és gyűjtöttem mintát a kísérletek elvégzéséhez. Budapesten a Budai Arborétumban és a Feneketlen tó környékén, Székesfehérváron pedig két egymástól távol eső területen vizsgáltam az egyes platán fajokat. A kórokozó azonosítását és jellemzését morfológiai bélyegek alapján, a molekuláris vizsgálatokat, valamint a patogenitási tesztet a Budapesti Corvinus Egyetem Növénykórtani Tanszékének laboratóriumában végeztem.

A fás részek vizsgálatát és a kártétel felmérését a nyugalmi időszakban (januárban vagy februárban) végeztem. A hajtásokat és a leveleket mindkét évben májustól szeptemberig vizsgáltam, általában a hónap közepén.

3.2 A vizsgálat anyaga

3.2.1 A vizsgált kórokozó

A kiválasztott helyszíneken az *Apiognomonina veneta* kórokozó megjelenését és kártételét vizsgáltam a platánfákon.

3.2.2 A vizsgált növények

A Budai Arborétumban megtalálható valamennyi keleti, nyugati és juharlevelű platán egyedet bevontam a vizsgálatba. A Feneketlen tónál két juharlevelű platánfán, Székesfehérváron egy idősebb és egy fiatalabb juharlevelű platánfán figyeltem a betegség megjelenését.

3.2.3 Izolátumok

A kórokozó izolálásához valamennyi helyszínről gyűjtöttem fertőzött leveleket, majd táptalajon izolálva a kórokozót, felhasználtam azokat a további vizsgálatokhoz (**2. táblázat**).

2. táblázat

Az izolátumok neve, gazdanövénye, a gyűjtés helye és ideje

Izolátum neve	Gazdanövény	Gyűjtés helye	Gyűjtés éve
ZS1	<i>Platanus×acerifolia</i>	Székesfehérvár (idősebb platán)	2013
ZS2	<i>Platanus×acerifolia</i>	Budapest, Feneketlen tó	2013
ZS3	<i>Platanus×acerifolia</i>	Székesfehérvár (fiatalabb platán)	2013
ZS4	<i>Platanus×acerifolia</i>	Budapest, Budai Arborétum	2013

3.2.4 Táptalajok, vegyszerek

A kórokozó izolálását és a tenyészetek fenntartását PDA (Potato Dextrose Agar) táptalajon végeztük (39,00 g PDA 1000,00 ml végtérfogatra kiegészítve desztillált vízzel). A polimeráz láncreakció során *Taq* polimeráz enzimet, 10x *Taq* puffert +KCl, MgCl₂-ot és dNTPs mixet használtam. A PCR-terméket High Pure PCR Product Purification Kit-tel tisztítottam.

3.2.5 Indítószekvenciák (primerek)

A polimeráz láncreakció (PCR) során univerzális indítószekvenciákat használtam fel: ITS4 (Internal Transcribed Spacer) és ITS5 (**White és mtsai., 1990**), melyeket az ITS régióra terveztek.

ITS4 reverse primer szekvenciája: 5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'

ITS5 forward primer szekvenciája: 5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3'

3.2.6 Eszközök

A beteg növényi részeket Leica ZOOM 2000 sztereomikroszkóppal vizsgáltam. A konídiumok vizsgálata során Nikon Eclipse 50i típusú citoplaszt mikroszkópot használtam. A mikroszkópi felvételeket QImaging MicroPublisher 5.0 RTV fényképezőgéppel készítettem. A tenyészeteket SANYO MLB-351 típusú fitotronban inkubáltam. A polimeráz láncreakció Applied Biosystems 9700 PCR készülékben ment végbe (**11. ábra**). A tisztított PCR termék mennyiségét NanoDrop 2000 (Thermo Scientific) spektrofotométer segítségével mértem meg.



11. ábra: Applied Biosystem 9700 típusú PCR készülék (Fotó: Lohonyai, 2013)

3.3 Vizsgálat módszere

3.3.1 A tünetek leírása és a kártétel felmérése

A betegség tüneteit a kijelölt helyszínekről gyűjtött növényi minták segítségével írtam le, makroszkopikus és mikroszkopikus vizsgálatot követően. A platánfák fertőzöttségének mértékét a felvételezési helyszíneken a hajtások, levelek, az ágak és a törzs vizsgálatával határoztam meg.

Az ágakon a rákos sebek, illetve a tavaszi hajtáselhalás előfordulásának gyakoriságát %-ban fejeztem ki. A fertőzöttség mértékének megállapításához a leveleket 6 fokozatú betegség skálába soroltam (**3. táblázat**), majd a Townsend-Heuberger képlet alapján kiszámított betegségfokból következtettem a kártétel mértékére (**Gartner, 1971**).

3. táblázat

A megbetegedés mértéke és kategóriába sorolása

Kategória	Megbetegedés mértéke %
0	Tünet nem látható
1	1-20 %-os fertőzöttség
2	21-40 %-os fertőzöttség
3	41-60 %-os fertőzöttség
4	61-80 %-os fertőzöttség
5	81-100 %-os fertőzöttség

A Townsend-Heuberger betegségfokot az alábbi képlet segítségével számítottam ki:

$$P = [\sum(n \times v) / Z \times N] \times 100 \text{ (Gartner, 1971).}$$

P – betegségfok

n – a növényrészek száma kategóriánként

v – kategória érték (6)

Z – a legmagasabb kategória

N – a vizsgált összes növényrész száma

3.3.2 Mintagyűjtés, a kórokozó izolálása és a tenyészetek fenntartása

A fertőzött hajtásokat, leveleket papírzacskóba helyeztem és feliratoztam, feltüntetve rajta a gyűjtés helyét és idejét. A mintákat a laboratóriumban lehetőség szerint azonnal vizsgáltam, vagy 1-2 napig hűtőszekrényben 4 °C-on tároltam.

A levelekről az erek mentén helyezkedő acervuluszokból konídiumokat helyeztünk lándzsátű segítségével PDA táptalajra. Petri-csészéket 24 °C-on termosztátban inkubáltuk. Egy héttel később a vegyes tenyészetekben növekvő telepek széléből 5 mm átmérőjű dugófúró segítségével micéliumkorongot oltottuk át. Az így létrehozott tiszta tenyészeteket jellemeztük és belőlük nyertünk micéliumot a patogenitási teszthez és a molekuláris vizsgálathoz.

3.3.3 A kórokozó morfológiai bélyegeinek vizsgálata

Mikroszkóp alatt a növényi részekben a vegetációs időszakban megjelenő termőtesteket és a bennük képződő szaporítóképleteket vizsgáltam. Meghatároztam a konídiumok általános morfológiai bélyegeit: sejtszámukat, alakjukat, méretüket.

A nyugalmi időszakban, az áttelelő levelekben képződő ivaros termőtesteket nem vizsgáltam.

3.3.4 A kórokozó tenészbélyegeinek vizsgálata

A tiszta tenyészeteket az általános szempontok alapján jellemeztem. Leírtam a színüket (színen, fonákon), a mintázottságukat, alakjukat, felszínüket, szélük morfológiáját. Kiszámoltam az izolátumok tenyészetének átlagos növekedési ütemét is (mm/24h).

3.3.5 Patogenitási teszt

A vizsgált helyszínekről négy-négy egészséges platánlevelet gyűjtöttem, amelyeket három lépésben fertőtlenítettem: 1%-os Domestos tartalmú vízben 5 percig, majd 70%-os etil-alkoholban 5 percig áztattam a leveleket, majd steril vízben 3x öblítettem őket. Lamináris fülkében megszáradást követően steril szikével megsértettük a levél ereket, és 5 mm átmérőjű dugófúró segítségével a tiszta tenyészetekből micéliummal átszőtt korongokat helyeztünk a sebzésre. Üveg edény aljára steril vizet öntöttünk és a mesterségesen fertőzött leveleket steril üveggolyókra helyeztük. A kontroll leveleket steril PDA koronggal inokuláltuk. A patogenitási teszt eredményét 7 és 14 nap múlva értékeltük.

3.3.6 Molekuláris vizsgálatok

DNS tisztítása a kórokozó tiszta tenyészetéből

A tiszta tenyészetekből 10 mm átmérőjű micélium korongokat steril dörzsmozsarakba helyeztünk, majd kvarchomok segítségével eldörzsöltük. 600 µl CTAB (cetil trimetil ammonium bromid) tartalmú puffert hozzáadva tovább dörzsöltük és 1,5 ml-es Eppendorf csövekbe átöntöttük. Ezt követően 40 percig 65 °C-on inkubáltuk, majd 600 µl kloroform-izoamil-alkoholos elegyet (24:1) mértünk hozzá. Vortexeltük, összeráztuk, majd tíz perc centrifugálás után pipettával óvatosan leszívtuk a felső vizes fázist és új Eppendorf csőbe mértük át. Ismét kloroform-izoamil-alkoholos elegyet pipettáztunk hozzá, és vortexelés után újabb 10 perces centrifugálás következett. Ismét átpipettáztuk a vizes fázist egy tiszta csőbe, 600 µl izopropanolt mértünk hozzá, melynek a segítségével denaturáltuk a nukleinsavat. Kézzel összeforgattuk, 5 percen át centrifugáltuk, majd a felülúszót leöntöttük, a pelletet lecsöpögtettük. Ezt követően a pelletre 1 ml 70%-os etanolt mértünk, majd 5 perc centrifugálás után a felülúszót újra leöntöttük, a pelletet lecsöpögtettük és vákuumszáritóba helyeztük 15 percre, hogy az etanol elpárologjon a csövekből. Ezután a pelletet 35 µl RNase-os TE oldatban szuszpenzáltuk. A kivont DNS-t -20 °C-on tároltuk.

Polimeráz láncreakció

A polimeráz láncreakcióhoz a következő összetevőket mértem össze 50 µl végtérfogatra:

- 34,5 µl víz
- 5 µl *Taq* puffer (+KCl)
- 3 µl 25 mM MgCl₂

- 2 µl 5 mM dNTPs (nukleotidok)
- 1-1 µl 20 pmol primer
- 0,5 µl *Taq* polimeráz enzim
- 3 µl DNS

A PCR készülékben az alábbi programot állítottuk be: az elsődleges denaturációt (94 °C-on 3 perc) követően az alábbi ciklus ismétlődött 30-szor:

- 94 °C-on 1 percig DNS denaturációs szakasz,
- 55 °C-on 45 másodpercig anellálási (primer kötési) szakasz,
- 72 °C-on 1 percig elongációs (lánc hosszabbítás) szakasz.

Végül 10 percig 72 °C-on az elmaradt szálak befejezésével lezárult a folyamat. A PCR terméket a későbbiekben -20 °C-on tároltuk.

Gélelektroforézis

1% agaróz + GelRed tartalmú gélben futattuk a kimért összetevőket: 2 µl víz, 3 µl festék, 5 µl PCR termék. A célszekvencia méretét 1 kB méretmarkerhez hasonlítottuk.

PCR-termék tisztítása

Az 50 µl PCR termékhez 250 µl Binding puffert (kötő puffert) mértünk. Ezt átpipettáztuk a gyűjtőcsőbe helyezett filterbe, majd 1 percig centrifugáltuk. A gyűjtőcsőben összegyűlt folyadékot kiöntöttük. Ezt követően 500 µl Washing Buffer-t (mosó puffert) pipettáztunk a szűrőbe és 1 percig centrifugáltuk. A mosó folyadék kiöntése után 200 µl mosópufferrel megismételtük az előző lépést. Ezután a szűrőt tiszta Eppendorf csőbe helyeztük és 1 percig centrifugáltuk. Végül tiszta Eppendorf csőbe 40 µl elúciós pufferrel oldottuk ki a szűrőből a PCR terméket 1 perces centrifugálással. A tisztított PCR termék koncentrációját spektrofotométerrel meghatároztuk, majd a továbbiakban -20 °C-on tároltuk.

A nukleinsav szekvencia meghatározása és analízise

Szekvencia meghatározásra 12 µl (50-80 ng/µl) tisztított PCR terméket küldtünk Szegedre a Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Közhasznú Nonprofit Kft.-be. A szekvenciát ABI 3500 (Applied Biosystems) típusú szekvenáló automatával, és ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing kittel határoztattuk meg, ITS4 reverse és ITS5 forward primerekkel. A szekvencia azonosításához az EMBL/GeneBank adatbázist, illetve annak

BLAST programját, a szekvenciák összehasonlításához, a filogenetikai törzsfa megrajzolásához és a megbízhatóság becslésére szolgáló bootstrap analízishez a CLC Sequence Viewer 6.5.3. szoftvert használtuk fel.

A NCBI adatbankból az EU254989, EU254990, DQ313549, EU255033, DQ994610 és DQ994611 hivatkozási számokon található *Apiognomonina* izolátumok szekvenciáit hasonlítottuk össze az általunk kiválasztott izolátumokéval (**4. táblázat**).

4. táblázat

Az NCBI adatbázisból felhasznált *Apiognomonina* izolátumok jellemző adatai

Referencia szám	Kórokozó	Izolátum származása	Gazdanövény
EU254989	<i>Apiognomonina acerina</i>	Svájc	<i>Acer</i> sp.
EU254990	<i>Apiognomonina acerina</i>	Svájc	<i>Acer pseudoplatanus</i>
DQ313549	<i>Apiognomonina hystrix</i>	Svájc	<i>Acer pseudoplatanus</i>
EU255033	<i>Apiognomonina hystrix</i>	Hollandia	<i>Acer pseudoplatanus</i>
DQ994610	<i>Apiognomonina veneta</i>	Tennessee (USA)	<i>Platanus occidentalis</i>
DQ994611	<i>Apiognomonina veneta</i>	Kanada	<i>Platanus orientalis</i>

4. EREDMÉNYEK

4.1 A betegség tüneteinek jellemzése

A betegség első tüneteit, a hajtáscsúcsok elhalását, a 2012-es évben, májusban figyeltem meg először. Ez a tünet 2013-ban nem, vagy csak elhanyagolható mértékben jelent meg. Mindkét évben május végén kezdődött el a levél erek barnulása (**12. ábra**), de ekkor még az észlelési küszöb alatt maradt a kártétel mértéke. A díszítő értéket még nem befolyásolta. A nyár folyamán, egyes helyszíneken a nekrosis mértéke és gyakorisága egyre súlyosabbá vált, sok levél elszáradt, majd lehullott.



12. ábra: Érmenti nekrosis juharlevelű platán levelén

(Fotó: Lohonyai, 2012)

A felvételezések során az ágakon kiterjedt nyílt sebeket figyeltem meg. A betegség következtében számos ágrész elhalt, majd letört a fáról, amely arra utal, hogy valószínűleg a kórokozó már régóta jelen van (**13. ábra**).



13. ábra: Az apiognomóniás betegség következtében letört ág Székesfehérváron

(Fotó: Lohonyai, 2012)

A fák törzsén is nyílt sebek alakultak ki, amelyek szintén régóta fennálló, súlyos fertőzésre utalnak (**14. ábra**).



14. ábra: Nyílt seb a juharlevelű platán törzsén, Székesfehérváron

(Fotó: Lohonyai, 2012)

4.2 Az *Apiognomonia veneta* okozta kártétel felvételezése a kijelölt helyszíneken

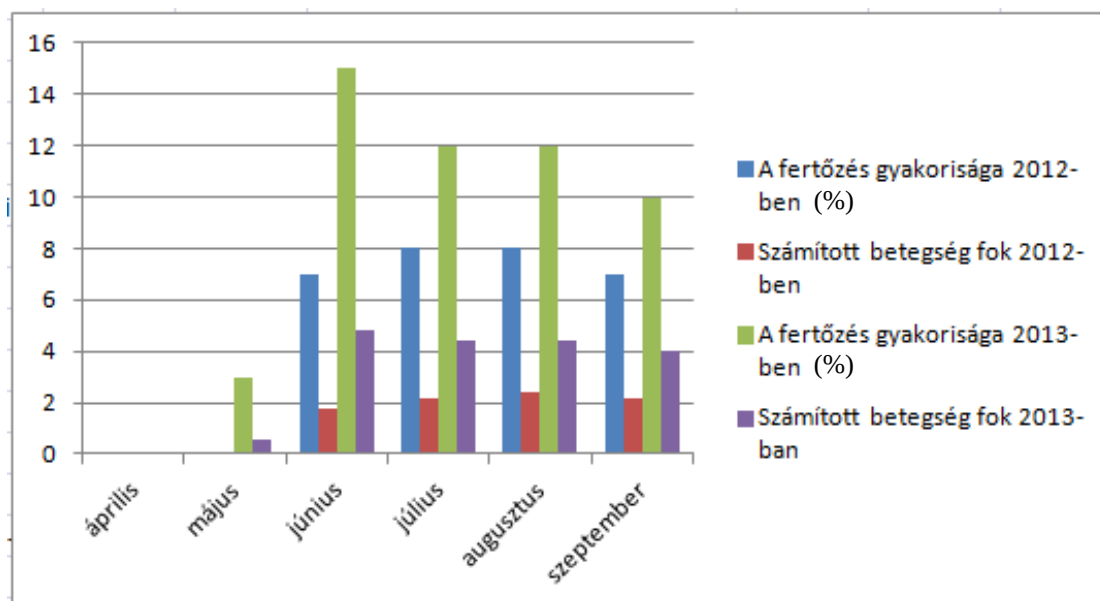
4.2.1 Az idősebb juharlevelű platánfa Székesfehérváron

Székesfehérváron az idősebbik juharlevelű platánon mindkét évben súlyos mértékű fertőzöttséget figyeltem meg. Ezen a helyszínen voltak leginkább szembetűnőek az *Apiognomonia veneta* által okozott tünetek.

A nyugalmi időszakban az ágakon a fertőzési gyakoriságot az általam vizsgálható magasságig 25%, illetve 30%-osnak állapítottam meg.

A 2012-es évben sok elhalt, elszáradt hajtásvéget figyeltem meg. A felvételezett 25 hajtásból 9 mutatta ezt a tünetet, tehát a fertőzés gyakorisága 36%-os volt. 2013-ban a tünet nem jelent meg.

A levélen okozott tünetek mindkét évben megjelentek, de 2013-ban korábban és lényegesen nagyobb mértékben. Júniusban, az idei esztendőben a fertőzés gyakorisága a kétszerese (15%) volt 2012 évben megfigyeltnek (**15. ábra**).



15. ábra: A levéltünetek gyakorisága (%) és a számított betegség fok Székesfehérváron 2012-ben és 2013-ban idősebb juharlevelű platánon

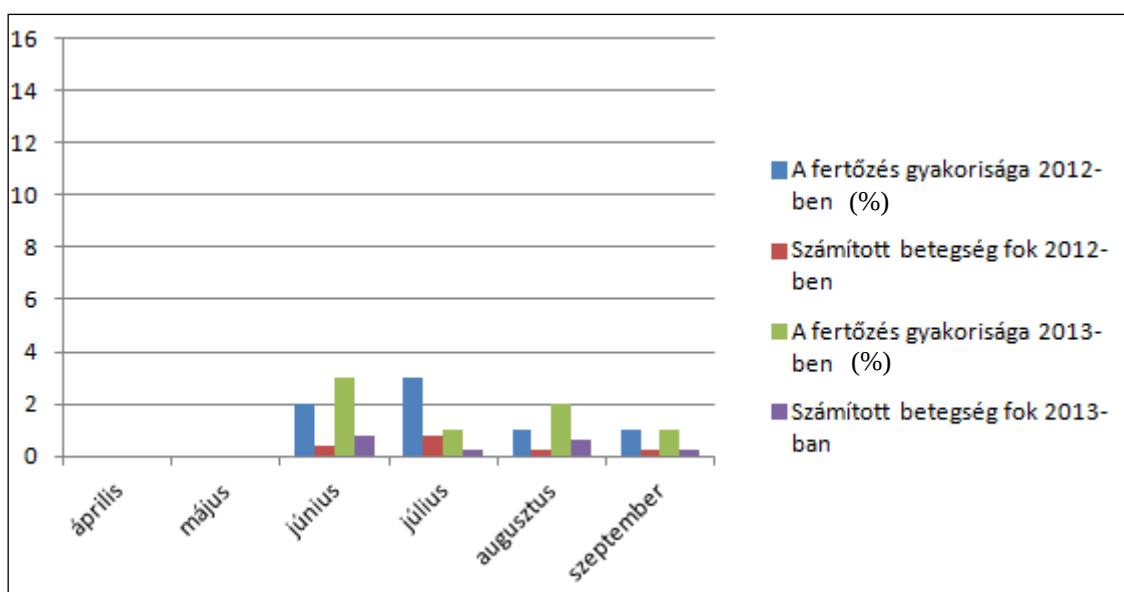
4.2.2 A fiatalabb juharlevelű platán Székesfehérváron

A székesfehérvári másik helyszínen a fa jóval fiatalabb, mint az előző alfejezetben tárgyalt platán. Ezen a fán nagyságrendekkel kisebb mértékű fertőzést tapasztaltam, amely összefüggésben áll a fa korával és kondíciójával.

A nyugalmi időszakban végzett felvételezés során az ágakon a gomba okozta nyílt sebek előfordulási gyakorisága 15% (2012), illetve 17% (2013) volt. A fa törzsén is megfigyeltem az *Apiognomonia veneta* kezdeti kártételét.

2012 tavaszán 5%-os hajtásszáradását figyeltem meg. 2013-ban ez a tünet nem fordult elő.

A leveleken okozott kártétele a kórokozónak mindkét évben enyhének mondható. Az első tüneteket mindkét évben, júniusban figyeltem meg először. A levelek fertőzöttségének maximális gyakorisága mindössze 3% volt, a számított betegségfok pedig nem haladta meg az 1-es értéket egyik évben sem (**16. ábra**). A betegségnek tulajdonítható korai levélhullás nem jelentkezett.



16. ábra: A levéltünetek gyakorisága (%) és a számított betegség fok Székesfehérváron 2012-ben és 2013-ban fiatalabb juharlevelű platánon

4.2.3 A keleti, a nyugati és a juharlevelű platán a Budai Arborétumban

Keleti platán

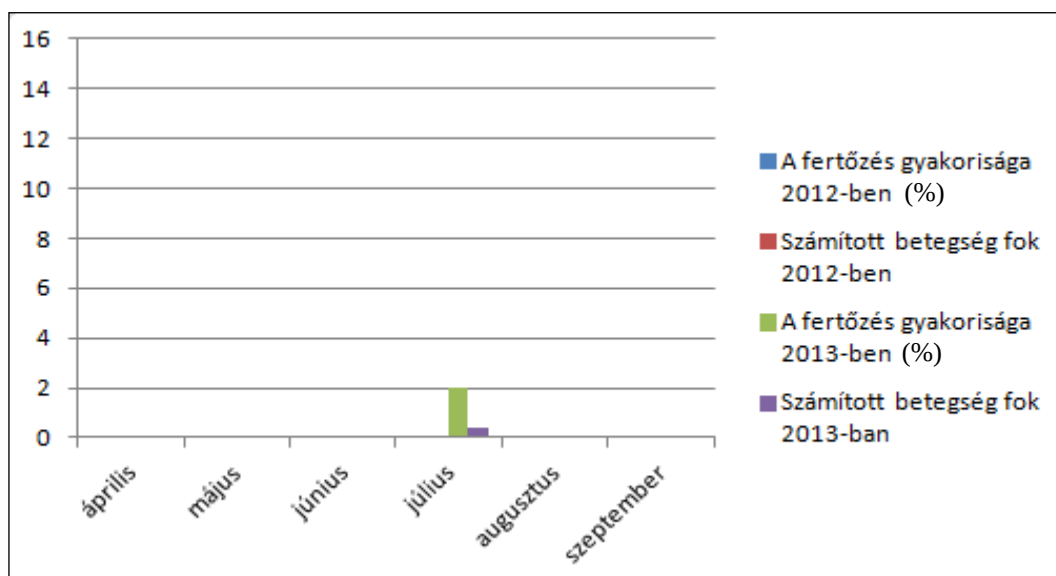
A keleti platánon egyik évben sem jelentkeztek az apiognomóniás betegség jellemző tünetei a vizsgált növényi részekén. A leveleken tavasszal és nyáron betegségre utaló

érelhalást nem figyeltem meg. 2012 szeptemberében ugyan kialakultak kisebb-nagyobb elhaló foltok a leveleken, bennük azonban szaporítóképlet nem képződött, így ezeket elsősorban az aszályos nyári időszak válthatta ki.

Nyugati platán

A nyugalmi időszakban megvizsgálva a fás részeket, a nyílt sebek gyakorisága alacsony (8%) volt. A hajtáselhalás gyakorisága 2012-ben 7%-os, 2013-ban 1%-os volt.

A 2012-es esztendőben a leveleken semmiféle tünetet nem figyeltem meg a vegetációs időszakban. 2013-ban a betegséggel összefüggésbe hozható érnekróizist csak nyár közepén figyeltem meg 100/2 db levélen (**17. ábra**).



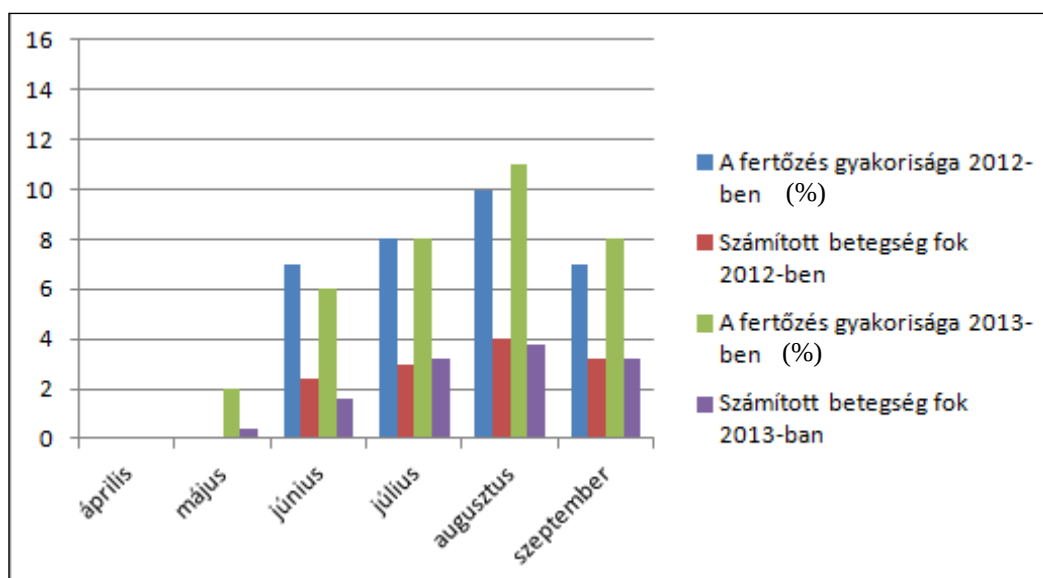
17. ábra: A levéltünetek gyakorisága (%) és a számított betegség fok a Budai Arborétumban 2012-ben és 2013-ban nyugati platánon

Juharlevelű platán

A Szüret utca felé néző juharlevelű platánon az előző két fához képest súlyosabb fertőzést figyeltem meg. A téli időszakban az ágakon lévő sebek előfordulási gyakorisága mindkét évben 18% volt.

A hajtásvégek elhalását 2012-ben 6%-os, 2013-ban 2%-os gyakorisággal figyeltem meg.

Az első tünetek már májusban megjelentek a fiatal leveleken. Mindkét év augusztusára a levéltünetek gyakorisága elérte a 10%-ot, a számított betegség fok pedig a 4-es értéket (**18. ábra**). A betegség megjelenése ebben az esetben ugyan nem nagymértékben, de már érzékelhetően rontotta a fa díszítőértékét.



18. ábra: A levéltünetek gyakorisága (%) és a számított betegség fok a Budai Arborétumban 2012-ben és 2013-ban juharlevelű platánon

4.2.4 Juharlevelű platánok a Feneketlen tónál

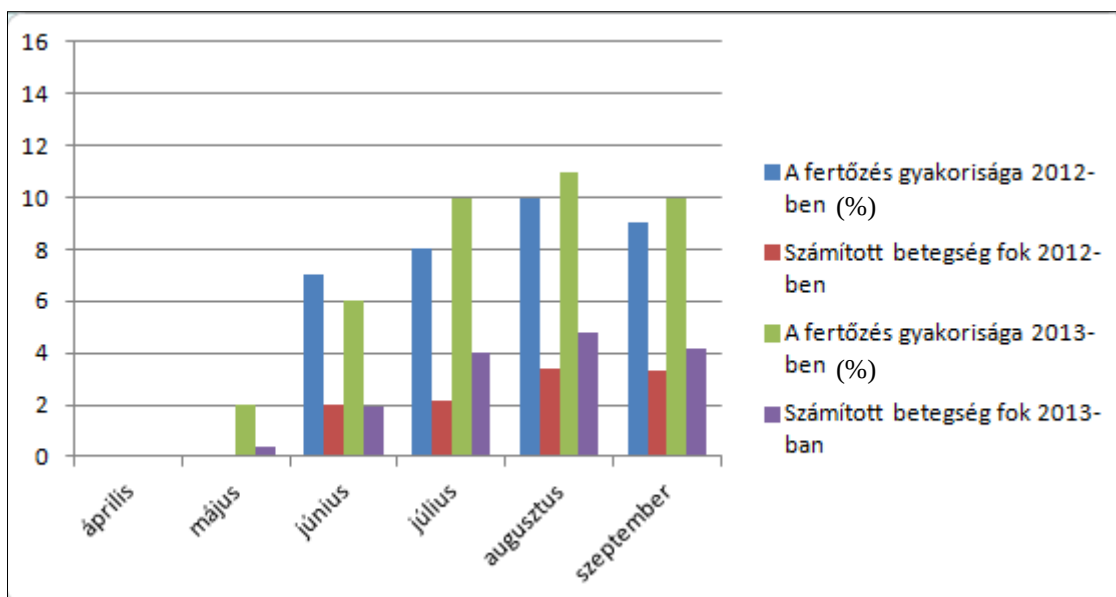
A Feneketlen tó partján a vizsgált két juharlevelű platánfa egymás mellett helyezkedik el, körülbelül azonos korúak is, mégis különböző mértékű fertőzöttséget figyeltem meg rajtuk.

A nyílt sebek előfordulási gyakorisága hasonló volt a két fán: 18% (1. sz.) és 20% (2. sz.)

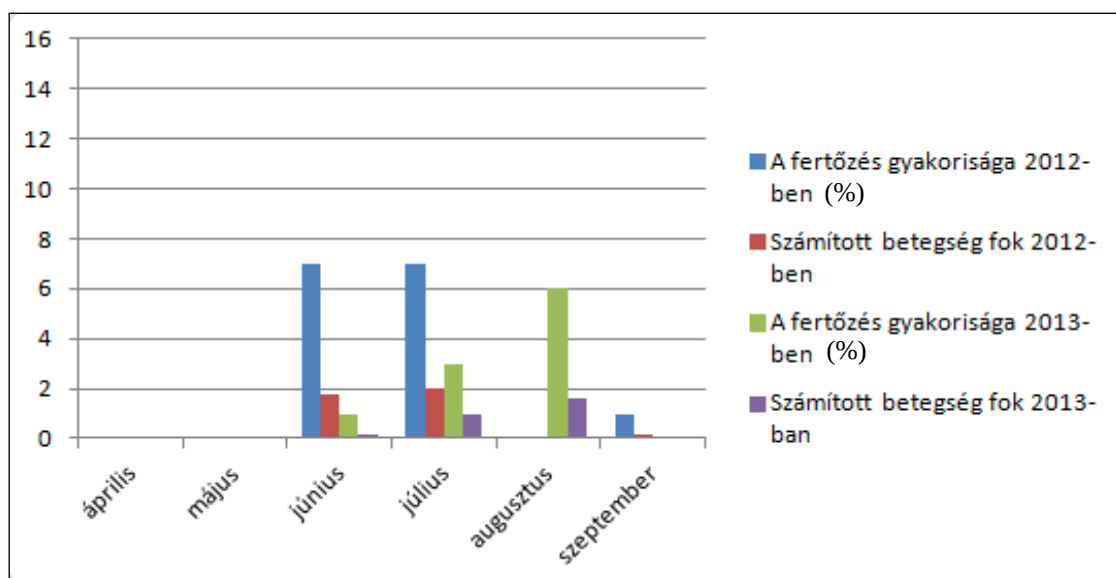
2012 májusában mindkét fa esetében 10%-os hajtáselhalást figyeltem meg. 2013-ban ez a tünet csak kis mértékben (1-2%) jelent meg.

Az általam 1. számmal jelölt platánon mindkét évben 10-12%-os levélfertőzöttségi gyakoriságot állapítottam meg (**19. ábra**). A levelek jelentős része már júliusban és augusztusban lehullott.

A 2. sz. jelölt fán az első tüneteket júniusban észleltem. Később megindult a levelek barnulása is, kiterjedt nekروزisok alakultak ki. A tüneteket mutató beteg levelek 2012-ben augusztusban, 2013-ban szeptemberben mind lehullottak (**20. ábra**).



19. ábra: A levéltünetek gyakorisága (%) és a számított betegség fok a Feneketlen tónál 2012-ben és 2013-ban juharlevelű platán (1. sz. egyedén)

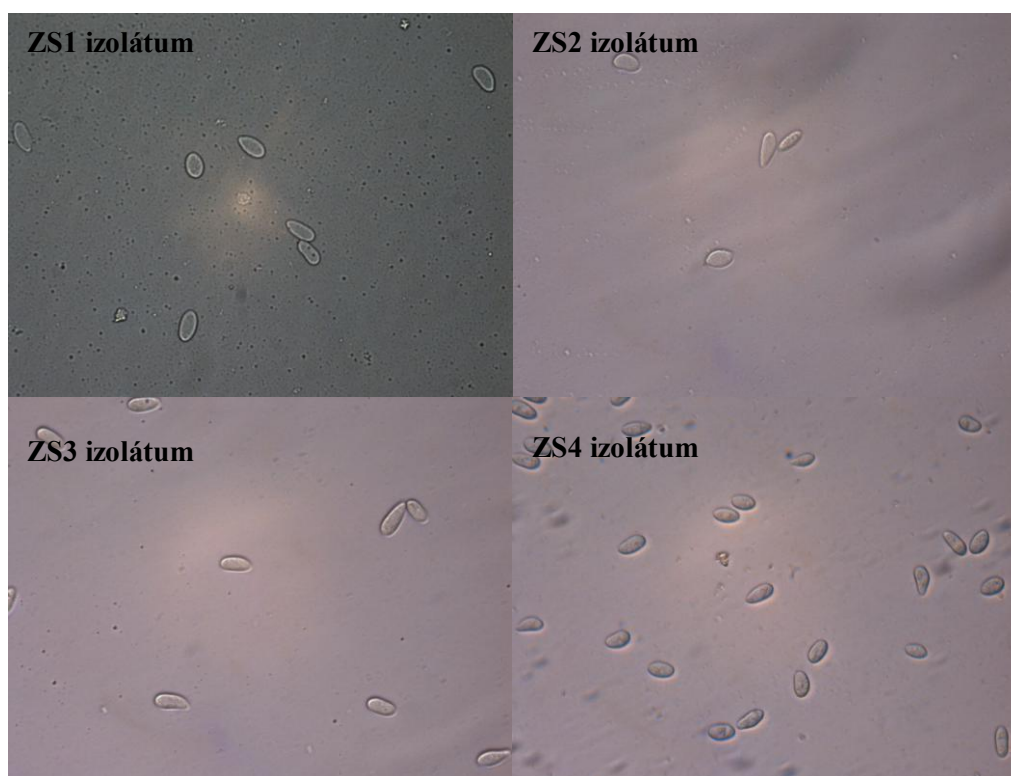


20. ábra: A levéltünetek gyakorisága (%) és a számított betegség fok a Feneketlen tónál 2012-ben és 2013-ban juharlevelű platán (2. sz. egyedén)

4.3 *Apiognomonia veneta* izolátumok morfológiai és tenyészbélyegei

4.3.1 Az *Apiognomonia veneta* izolátumok morfológiai jellemzői

Az *Apiognomonia veneta* anamorf alakja acervuluszokban képi konídiumait. Az acervuluszok kezdetben szürkés színűek, majd később szürkésfeketék. Alakjukat tekintve oválisak, méretük 0,5 mm alatti. Az acervuluszban szétaképződését nem figyeltem meg. A gomba konídiumai egysejtűek, hialinok, hosszúkásak, általában tojás vagy citrom alakúak (**21. ábra**). Konídiumok átlagos méretei az egyes izolátumok alapján: 10,7 μm $\times$ 6,4 μm (ZS1 izolátum), 11,3 $\times$ 5,3 μm (ZS2 izolátum), 11,8 $\times$ 5,6 μm (ZS3 izolátum, 10,7 $\times$ 5,5 μm (ZS4 izolátum).



21. ábra: *Apiognomonia veneta* izolátumok konídiumai 600x nagyításon

(Fotó: Lohonyai, 2013)

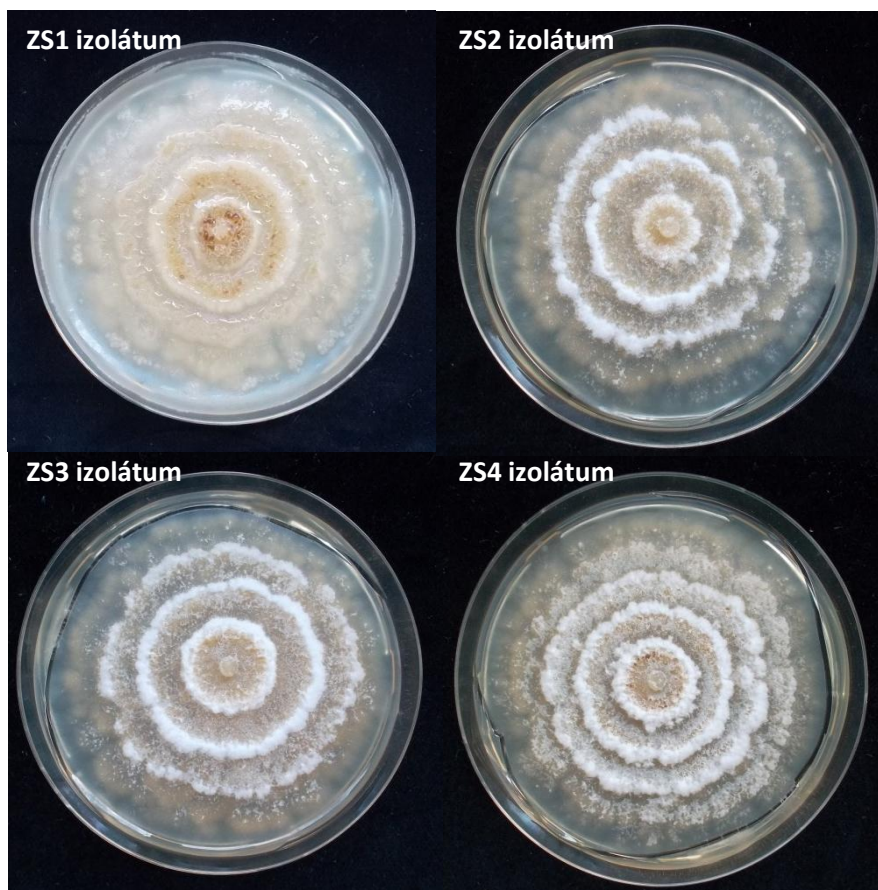
4.3.2 Az *Apiognomonía veneta* izolálása és tenyészbélyegeinek jellemzői

2012 év júliusában és augusztusában többször is megpróbáltuk táptalajon izolálni a kórokozót, de sajnos nem jártunk sikerrel. Az *Apiognomonía veneta* mellett mindig megjelent egyéb szaprofita baktérium vagy gomba is a tenyészetekben, amelytől többszöri átoltás illetve antibiotikumos kezelés után sem tudtunk megszabadulni. A platán csipkésposloska egyedei a nyár végére már igen nagy számban károsítottak mindegyik helyszínen és a levelek az ürülékkel erőteljesen szennyezettek voltak. Az elhalt, nekrotizálódott szövetrészeken másodlagos szaprofita gombák konídiumait is megtaláltuk, melyek sokkal gyorsabban növekednek a táptalajon, mint az általunk vizsgált kórokozó. Ezek a tényezők játszhattak szerepet abban, hogy 2012-ben nem sikerült tiszta tenyészeteket létrehozni.

Az előző év tapasztalatait követően 2013-ban az első acervuluszok megjelenése után, június elején izoláltuk a gombát táptalajon és ebben az évben sikerrel is jártunk. Nyár elején a csipkésposloska kártétele még egyáltalán nem volt jelentős, sőt a legtöbb helyszínen még meg sem jelent. Továbbá a leveleken még csak érbarnulást figyeltem meg, kiterjedt nekrózis még nem alakult ki, így szaprofita gombák sem jelentek meg még az elhalt szövetrészekben.

Az *Apiognomonía veneta* PDA táptalajon szabályos kör alakban növekszik. A telepek széle csipkézett. A tenyészet fonáki része világos, sárgásbarna színű, a színén a fehér színű, sűrű légmicélium látható. A tenyészetben koncentrikus zónázottság figyelhető meg **(22. ábra)**. A leoltási pont körül általában barnás, feketés termőtest kezdemények jelentek meg (kivéve a ZS4-es izolátumot).

Az *Apiognomonía veneta* izolátumainak átlagos növekedése: 5,24 mm/nap. A leggyorsabban a ZS4-es izolátum növekedett: 5,58 mm/nap. A ZS3 izolátum növekedési üteme volt a leglassabb: 4,8 mm/nap.



22. ábra: *Apioognomonía veneta* izolátumok 12 napos tenyésztete PDA táptalajon
(Fotó: Lohonyai, 2013)

4.4 Patogenitási teszt

Az izolált kórokozó megbetegítő képességét valamennyi izolátum esetében bizonyítottuk a patogenitási teszt során. A kórokozó micéliumával inokulált leveleken két hét elteltével a fertőzési pontok körül kisebb-nagyobb átmérőjű (4-20 mm) barna léziókat figyeltünk meg (**23. ábra**). Egy hónap múlva a nekrosis kiterjedtté vált, az erek mentén nagy kiterjedésű szöveti elhalás jelentkezett (**24. ábra**). Az értékelés napjáig a steril táptalajkoronggal inokulált kontroll leveleken tünetek nem alakultak ki.



23. ábra: A ZS1-es izolátummal végzett patogenitási teszt eredménye
2 héttel az inokuláció után
(Fotó: Lohonyai, 2013)

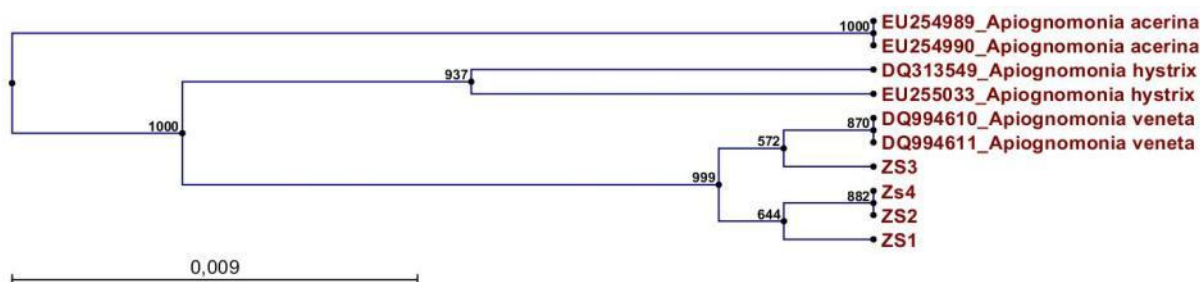


24. ábra: A ZS1-es izolátummal végzett patogenitási teszt eredménye
1 hónappal az inokuláció után
(Fotó: Lohonyai, 2013)

4.5 Molekuláris vizsgálatok

A kórokozó molekuláris azonosítását mind a négy izolátum esetében elvégeztük. Az ITS4 és ITS5 indítószekvenciák egy kb. 600 bp hosszúságú szakaszt emeltek ki a polimeráz láncreakció során. A PCR termék szekvenciájának meghatározása után a nukleotid sorrendet összevetettük a nemzetközi adatbázisban fellelhető szekvenciákkal és megállapítottuk, hogy az izolátumok közel 100%-os homológiát mutatnak másik két *Apiognomonina veneta* izolátum szekvenciáival (DQ994610, DQ994611).

Megrajzolva a régió filogenetikai törzsfáját megállapítottuk, hogy az *Apiognomonina veneta* izolátumok a törzsfán 99,9%-os bootstrap értékkel jól elkülönülnek a másik két *Apiognomonina* fajtól (25. ábra). A vizsgált szakaszon a székesfehérvári ZS3-as izolátum a legnagyobb homológiát az Amerikai Egyesült Államokból származó *Apiognomonina veneta* izolátummal mutatja, míg a többi izolátum néhány bázis szubsztitúció miatt tőlük kissé elkülönül (25. ábra).



25. ábra: Filogenetikai törzsfa

Magyarázat a 25. ábrához: A vízszintes vonalak az *Apiognomonina* izolátumok genetikai távolságát mutatják a vizsgált szekvenciák eltérései alapján. A függőleges vonalak az izolátumok egyezőségét jelzik az elágazásokig. A referencia izolátumokat azzal a hivatkozási kóddal jelöltük (feltüntetve mellette a kórokozó nevét is), amely alapján megtalálhatóak a nemzetközi adatbázisban.

5. KÖVETKEZTETÉSEK

A vegetációs időszakban a platán apiognomóniás betegségének első tünetei, a hajtáscsúcsok elhalása, 2012-ben minden vizsgálati helyszínen megjelent. 2013-ban ez a tünet nem, vagy csak elvétve jelentkezett, amely egyrészt meglepő, hiszen az Országos Meteorológiai Szolgálat adatai alapján éppen a 2013-as év bizonyult az átlagnál csapadékosabbnak és **Griegel (2003)** szerint is a hajtásvégek száradása csapadékos időben fordul elő. Másrészt viszont a meteorológiai adatok szerint 2012-ben április elejétől május közepéig több olyan 1-2 héten át tartó periódus volt, amikor a napi átlag hőmérséklet 20 °C alatt maradt, míg 2013 tavasza ebben az időszakban szokatlanul meleg volt. Április első dekádjában volt egy hűvösebb periódus, majd a későbbiekben csak 1-2 napra csökkent 20 °C alá a napi átlaghőmérséklet. **Berry (1985)** megfigyelései alapján a hajtáselhalás akkor válhat súlyossá súlyossága, ha az átlagos napi középhőmérséklet alacsony (20 °C alatti) marad. A 2-3 napig tartó meleg időszakok visszavetik a gombát a fejlődésben. Meglátásom szerint a magasabb tavaszi hőmérséklet nem kedvezett a kórokozó korai hajtásfertőzésének, amelyet alátámaszt **Neely és Himelick (1963)** megfigyelése, akik szerint leginkább a hőmérséklet befolyásolja a kórokozó terjedését. A május végén, július elején leveleken megjelenő ér menti barnulás, majd későbbi nekrózis, illetve a fás részekben megfigyelt, nem gyógyuló, nyílt sebek megegyeztek a **Berry (1985)** és **Folk (2000)** által ismertetett tünetekkel.

Eredményeim alapján is a keleti platán a legellenállóbb a betegséggel szemben, hiszen egyik évben sem jelentek meg rajta a betegség tünetei, pedig közvetlen környezetében is bőségesen képződött inokulum. Ezt támasztják alá **Varga (2008)** megállapításai is. **Horánszky (2001)** szerint a nyugati platán a legfogékonyabb a kórokozóra, vizsgálataim során azonban a három faj közül egyértelműen a juharlevelű platán egyedein figyeltem meg a súlyosabb fertőzést. A fajok közötti fogékonyságbeli vizsgálathoz azonban az általam vizsgált egyedszám mindenképpen kevés. Egyetlen nyugati platán vizsgálata alapján, nem lehet erre vonatkozóan következtetést levonni.

A kórokozó acervuluszai kezdetben szürkés, majd szürkésfeketék. Alakjukat tekintve oválisak, méretük 0,5 mm alatti. Megfigyeléseim megegyeznek az irodalmi adatokkal. Az acervuluszokban képződő mitospórák egysejtűek, hialinok, oválisak. A konídiumok morfológiája egyezik **Barnet (1956)** jellemzésével. **Ubrizsy és Vörös (1968)** szerint a konídiumok mérete 12-15 µm x 4-6 µm. Az általam mért konídiumok átlagos méretei a szerzők által megjelölt szélsőértékek közé esnek.

Az izolátumok tenyésztésére vonatkozó hazai adatot nem találtunk. A ZS1-4 *Apiognomonina veneta* izolátumok tenyésztése PDA táptalajon világos, sárgásbarna színű, ellentétben **Sogonov és mtsai. (2007)** által leírtakkal, miszerint a kórokozó izolátumainak tenyésztése leggyakrabban sötétbarna. A szerzők a kórokozó külföldi izolátumainál megfigyelték a tenyésztetekben barnás vagy szürkés, esetleg narancsos színű koncentrikus gyűrűzöttséget. A koncentrikus mintázottság a hazai izolátumok esetében is megjelent, azonban az alapszíntől csak kissé volt sötétebb.

Az ITS régió PCR vizsgálat megerősítette, hogy valamennyi esetben az izolált kórokozó az *Apiognomonina veneta* volt. A szekvenciák közel 100%-os homológiát mutattak a nemzetközi adatbázisban lévő *Apiognomonina veneta* izolátumok szekvenciáival. Izolátumaink nukleotid sorrendjét elküldtük a nemzetközi adatbázisba, amelyek az első európai adatok a gomba ITS régiójáról. Az adatbázisban a régióból korábban csak két izolátum szekvenciája volt elérhető, az egyik az USA-ból a másik Kanadából származott.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A platánfa gyorsan növekvő, könnyen szaporítható fa, melyet leginkább díszfaként ültetnek. A három legnépszerűbb platánfaj: a közönséges vagy juharlevelű platán, a keleti és a nyugati platán. Hazánkban egyre nagyobb gondot okoz a platán apiognomóniás betegsége. A hazai szakirodalmak elsősorban a tünetekkel és a kórokozó morfológiai tulajdonságaival foglalkoznak. A tenyészbélyegekkel kapcsolatban azonban csak egy külföldi forrást találtam. A nemzetközi szekvencia adatbázisban is mindössze két külföldi izolátum szekvencia adatait töltötték fel az ITS régióból.

Munkám során célul tűztem ki a kártétel felmérését, a kórokozó morfológiai tulajdonságainak és tenyészbélyegeinek jellemzését, valamint a kórokozó molekuláris azonosítását és jellemzését polimeráz láncreakcióval az ITS (Internal Transcribed Spacer) régió szekvenciája alapján.

Budapesten a Budai Arborétumban és a Feneketlen tó környékén, Székesfehérváron pedig két egymástól távol eső területen felvételeztem a kártétel mértékét a fás részek, hajtások és levelek vizsgálatával. Székesfehérvári idősebb juharlevelű platánon figyeltem meg a legsúlyosabb fertőzöttséget. Az ágakon a fertőzési gyakoriság meghaladta a 25%-ot. A leveleken 2013-ban júniusában a fertőzés gyakorisága 15%-os, a kiszámított betegségfok pedig 7 volt.

A vizsgálati helyszíneken mintát gyűjtöttem a további vizsgálatokhoz. A kórokozót PDA táptalajon izoláltam, majd patogenitási teszttel igazoltam az izolátumok megbetegítő képességét. Az izolátumokat először morfológiai és tenyészbélyegek alapján azonosítottam és jellemeztem. Az *Apiognomonia veneta* ivartalan alakja szürkés színű, ovális acervulusokban képzí egysejtű, hialin, tojás vagy citrom alakú konídiumait. Az *Apiognomonia veneta* tiszta tenyészet PDA táptalajon szabályos kör alakú, széle csipkézett. A tenyészet fonáki része világos, sárgásbarna színű, a színén a fehér színű, sűrű légmicélium képződik. A tenyészetben koncentrikus zónázottság figyelhető meg. A leoltási pont körül általában barnás, feketés termőtest kezdemények jelennek meg.

A molekuláris azonosításhoz a kórokozó tiszta tenyészetéből össznukleinsavat vontunk ki, majd az ITS4 és ITS5 univerzális primerekkel megsokszoroztuk az ITS régió egy részét. A PCR termék szekvenciáját meghatároztattuk, majd a nukleotid sorrendet összevetettük a nemzetközi adatbázisban fellelhető szekvenciákkal és megállapítottuk, hogy az izolátumok közel 100%-os homológiát mutatnak másik két *Apiognomonia veneta* izolátum

szekvenciáival (DQ994610, DQ994611). Megrajzolva a régió filogenetikai törzsfáját megállapítottuk, hogy az *Apiognomonina veneta* izolátumok a törzsfán 99,9%-os bootstrap értékkel jól elkülönülnek a másik két *Apiognomonina* fajtól. Izolátumaink nukleotid sorrendjét elküldtük a nemzetközi adatbázisba, amelyek az első európai adatok a gomba ITS régiójáról.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani konzulenseimnek, Dr. Petróczy Mariettának, a dolgozat készítése során nyújtott szakmai segítségéért és türelméért és Dr. Palkovics Lászlónak, hogy a kutatómunkámhoz biztosította a szükséges feltételeket, és mindig számíthattam észrevételeire, tanácsaira.

Köszönettel tartozom a Növénykórtan Tanszék minden munkatársának a vizsgálataim során nyújtott segítségéért.

8. IRODALOMJEGYZÉK

1. **Agrios, G. N.** 1997. Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto. p: 328—329.
2. **Aloj, B., Nanni, B. Maziano, F. és Noviello, C.** 1993. Valutazione dell'attività fungicida in vitro contro l'agente dell'antracnosi del platano. *Informatore Fitopatologico*, 43: 53—56.
3. **Bánhegyi J., Tóth S., Ubrizsy G. és Vörös J.** 1985. Magyarország mikroszkópikus gombáinak határozókönyve. I. kötet. Budapest. Akadémiai Kiadó. p: 495—496.
4. **Barnet, H. L.** 1956. Illustrated Genera of imperfect fungi. Morgantown, West Virginia. p: 200.
5. **Barret, D. K. és Pearce, R. B.** 1981. Giant leaf blotch disease of sycamore (*Acer pseudoplatanus*) in Britain. *Transactions of the British Mycological Society*, 76: 317—320.
6. **Berry, F. H.** 1985. Anthracnose Diseases of Eastern Hardwoods. Forest Insect & Disease Leaflet 133. US department of agriculture forests service. p: 1—8.
7. **Branzati, M. B. és Machetti, R.** 1980. Il seccume del platano. *Informatore Fitopatologico*, 30: 3—6.
8. **Cellerino, G. P. és Anselmi, N.** 1978. Distribuzione in Italia della *Gnomonia platani* Kleb. E considerazioni relative alla suscettibilità dell'ospite, all'epifitologia ed alla lotta. *Informatore Fitopatologico*, 28: 53—64.
9. **Kövics Gy.** 2000. Növénybetegséget okozó gombák névtára. Budapest. Mezőgazda Kiadó. p: 60—62.
10. **Farr, D.F. és Rossman, A.Y.** 2013. Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. from <http://nt.ars-grin.gov/fungalatabases/>
11. **Folk Gy.** 2000. Díszfák és díszcserjék betegségei In: Glits M. és Folk Gy. 2000. Kertészeti növénykórtan. Budapest. Mezőgazda Kiadó. p: 458.
12. **Garibaldi, A.** 1990. Funghi parassiti del verde urbano quaderno GRIFA. 10: 13—17.
13. **Gartner, H.** 1971. Versuche zur Bekämpfung von *Botrytis cinerea* (Grauschimmel) als Traubenfaule. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 21 (3): 183—188.

14. **Gibbs, J. N. és Burdekin, D. A.** 1983. De-icing salt and crown damage to London plane. *Arboricultural Journal*, 7: 227—237.
15. **Griegel, A.** 2003. Kertgyógyítás. Díszfák, díszcserjék betegségei és kárevői. Budapest. Silvans Díszfaiskola Kft. p: 74.
16. **Hollós L.** 1913. Kecskemét vidékének gombái. *Matematikai és természettudományi közlemények*, 32: 1—179.
17. **Horánszky A.** 2001. Fák. Kertben, parkban és a szabad természetben. Budapest. Magyar Könyvklub.
18. **Index Fungorum** 2013. (<http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>)
19. **Klebahn, H.** 1908. Untersuchungen über einige Fungi Imperfecti und die zugehörigen ascomyceten formen. *Zeitschr. Pflzkrkhten*, 18: 129—139.
20. **Koltay A.** 2005. Az erdők egészségi állapota - új növényi betegségek megjelenése. Debrecen. 10. Tiszántúli Növényvédelmi Fórum, p: 130—140.
21. **Mejía, L. C., Castlebury, L. A., Rossman, A. Y., Sogonov, M. V. és White, J. F, Jr.** 2011. A systematic account of the genus *Plagiostoma* (*Gnomoniaceae*, *Diaporthales*) based on morphology, host-associations, and a four-gene phylogeny. *Studies in Mycology*, 68: 211—35.
22. **Milevoj, L. és Kravanja, N.** 1999. Zdravstvena problematika drevja v urbanen okolju. *Zbornik predavanj*, p: 421—428.
23. **Milne K. és Hudson H. J.** 1987. Artificial infection of the leaves of the London plane by ascospores and conidia of *Apiognomonia veneta*. *Transactions of British Mycological Society*, 88: 399—432.
24. **Moesz G.** 1942. Budapest és környékének gombái. *Botanikai Közlemények*, 39: 509—510.
25. **Momčilo, A., Jelica, B. és Tatjana, P.** 2005. *Apiognomoniozna plamenjača lišća i mladara i izumiranje grančica i grana ('Antraknoza') platana*. *Zaštita bilja*, 56: 5—24.
26. **Montecchio, L.** 2000. L'antracnosi del platano Sherwood. *Foreste ed Alberi Oggi*, 6: 25—26.
27. **Neely, D. és Himelick, E. B.** 1963. Temperature and Sycamore anthracnose severity. *Plant Disease Reporter*, 47: 171—175.
28. **O'Donnell, K.** 1993. *Fusarium* and its near relatives. In “The Fungal Holomorph: Mitotic, Meiotic and Pleomorphic Speciation in Fungal Systematics” (D. R. Reynolds and J. W. Taylor, Eds.), CAB International, Wallingford. p: 225—233

29. **Pásztor Petra, 2012a.** Endoterápiás kezelés. (http://parkfavedelem.hu/index.php?option=com_content&view=article&id=34&Itemid=92, letöltés időpontja: 2013. október. 20.)
30. **Pásztor Petra, 2012b.** Parkfavédők az értékes fáinkért (http://parkfavedelem.hu/index.php?option=com_content&view=article&id=44%3Aparkfavedk-az-ertekesfainkert&catid=24%3Apublikaciok&Itemid=112&lang=de, letöltés időpontja: 2013. október 15.)
31. **Pirone, P. P.** 1970. Diseases of ornamental plants. New York. Ronald Press, p: 408.
32. **Rathke, S.** 1978. Leaf vein disease of *Platanus* (*Gnomonia veneta* (Sacc. & Speg.)). Nachrichtenblatt für den Pflanzenschutz in der DDR, 32 (12): 256.
33. **Sagasta, R. és Aspetia, E. M.** 1975. *Discula platani* (Peck.) Sacc. Una peligrosa enfermedad de nuestros plátanos ornamentales. Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, Protección Vegetal p: 541-556.
34. **Santamour, F. S.** 1976. Resistance to Sycamore Anthracnose disease in hybrid *Platanus*. Plant Disease Reporter, 60: 161—162.
35. **Seifers, D. és Ammon V.** 1980. Mode of penetration of sycamore leaves by *Gloesporium platani*. Phytopathology, 70: 1050—1055.
36. **Sogonov, M. V., Castlebury, L. A. Rossman, A Y. és White, J. F.** 2007. The type species of *Apiognomonia*, *A. veneta*, with its *Discula* anamorph is distinct from *A. errabunda*. Mycological Research, 111 (6): 693—709.
37. **Sogonov, M. V., Castlebury L. A., Rossman, A. Y., Mejía, L. C. és White, J. F.** 2008. Leaf-inhabiting genera of the *Gnomoniaceae*, *Diaporthales*. Studies in Mycology, 62: 1—79.
38. **Svihra, P. és McCain, A. H.** 1992. Susceptibility of plane trees to anthracnose and powdery mildew in California. Journal of Arboriculture, 18: 161—163.
39. **Swart, W. J., Wingfield, M. J. és Baxter A. P.** 1990. First report of *Discula platani* on plane trees in South Africa. Phytolactica 22: 143—144.
40. **Tóth I.** 1969. Díszfák. díszcserjék. Budapest. Mezőgazdasági Kiadó. p: 100-101.
41. **Tello, M. L., Redondo, C. és Mateo—Sagasta, E.** 2000. Health Status Of Plane Trees (*Platanus* spp.) in Spain. Journal of Arboriculture, 26 (5): 246—254.
42. **Tomiczek, C.** 1999. Starkes auftreten des blattbraunepilzes anlaubbaumen. Forstschutz aktuell, 20: 23—24.

43. **Ubrizsy G.** 1965. Növénykórtan II. Gombás betegségek, virágos élősködők károsításai. Budapest. Akadémia Kiadó. p: 263.
44. **Varga I.** 2008. Beteg platanok. (<http://veol.hu/hirek/beteg-platanok-1368891>, letöltés időpontja 2013. október 12.)
45. **Vörös J.** 1985. *Deutomyces* – konídiumos gombák In: Bánhegyi J., Tóth S., Ubrizsy G. és Vörös J. Magyarország mikroszkópikus gombáinak határozókönyve. II. kötet. Budapest. Akadémia Kiadó. p: 965.
46. **Vigouroux, A.** 1986. *Platanus* diseases, with special reference to canker stain; the present situation in France. EPPO Bulletin, 16 (3): 527—532.
47. **Von-Sury, R. és Fluckiger, W.** 1991. Effects of erpolution and water stress on leaf blight and twig cankers of London planes. New Phytologist, 118: 97—405.
48. **Ubrizsy G. és Vörös J.** 1968. Mezőgazdasági mykologia. Budapest. Akadémia Kiadó. p: 412.
49. **Wittmann, W. és Fickert, W.** 1988. Die Blattbraune der Platane. Pflanzenschutz, 5: 4.
50. **White, T. J., Bruns, T. D., Lee, S., Taylor, J.** 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M. I., Gelfand, H. D., Sninsky, J. J., White, T. J. 1990. PCR protocols, a guide to methods and applications. San Diego, California: Academic Press. p: 315—322.