

**BUDAPESTI CORVINUS EGYETEM
KERTÉSZETTUDOMÁNYI KAR
BUDAPEST**

Új adatok a platán apiognomóniás betegségéhez

Lohonyai Zsófia

Növényorvos

Készült a Növénykórtani Tanszéken

Közreműködő tanszék(ek): _____

Tanszéki konzulens: Dr. Petrőczy Marietta

Dr. Palkovics László

Konzulens(ek): _____

Bírálok: _____

Budapest, 2013. 12. 13.

tanszékvezető/szakirányfelelős

konzulens

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS	4
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	6
2.1. A kórokozó rendszertani besorolása és elnevezése	6
2.2. A kórokozó földrajzi elterjedése	6
2.3. Jelentősége	7
2.4. A kórokozó gazdanövényköre és azok fogékonysága	8
2.5. A betegség tünetei	9
2.6. A kórokozó biológiája, a betegség lefolyása	11
2.7. Az időjárás hatása a kórokozóra	11
2.8. Védekezés	12
2.9. A kórokozó ivaros és ivartalan alakjának morfológiai jellemzői	13
2.10. A kórokozó tiszta tenyészetének morfológiai jellemzői	15
2.11. Az <i>Apiognomonina veneta</i> kórokozó molekuláris azonosítása	16
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	17
3.1. A vizsgálat helye és ideje	17
3.2. A vizsgálat anyaga	17
3.2.1. A vizsgált kórokozó	17
3.2.2. A vizsgált növények	17
3.2.3. Izolátumok	17
3.2.4. Táptalajok, vegyszerek	18
3.2.5. Indítószekvenciák (primerek)	18
3.2.6. Eszközök	18

3.3. A vizsgálat módszere	19
3.3.1. A tünetek leírása és a kártétel felmérése	19
3.3.2. Mintagyűjtés, a kórokozó izolálása és a tenyészetek fenntartása	20
3.3.3. A kórokozó morfológiai bélyegeinek vizsgálata	20
3.3.4. A kórokozó tenyészbélyegeinek vizsgálata	20
3.3.5. Patogenitási teszt	20
3.3.6. Molekuláris vizsgálatok	20
4. EREDMÉNYEK	23
4.1. A betegség tüneteinek jellemzése	23
4.2. Az <i>Apiognomonina veneta</i> okozta kártétel felvételezése a kijelölt helyszíneken	25
4.2.1. Az idősebb juharlevelű platánfa Székesfehérváron	25
4.2.2. A fiatalabb juharlevelű platán Székesfehérváron	26
4.2.3. A keleti, a nyugati és a juharlevelű platán a Budai Arborétumban	26
4.2.4. Juharlevelű platánok a Fenekestlen-tónál	28
4.3. <i>Apiognomonina veneta</i> izolátumok morfológiai és tenyészbélyegei	30
4.3.1. Az <i>Apiognomonina veneta</i> izolátumok morfológiai jellemzői	30
4.3.2. Az <i>Apiognomonina veneta</i> izolálása és tenyészbélyegeinek jellemzői	30
4.4. Patogenitási teszt	32
4.5. Molekuláris vizsgálatok	33
5. KÖVETKEZTETÉSEK	34
6. ÖSSZEFOGLALÁS	36
7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	37
8. IRODALOMJEGYZÉK	38

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

A platánfák gyorsan növekvő, könnyen szaporítható fák, amelyekből kiváló minőségű, egyenes, jól megmunkálható farönkök készíthetők. Gyorsabban nőnek, nagyobb területen, kevésbé intenzív gazdálkodással termesztethetők, mint a legtöbb keményfa faj (Seifers és Ammon, 1980). A legnépszerűbb platánfajok a *Platanus × hispanica* MÜNCH. (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 Andrassy 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 platánok 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 platánfák 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 legbetegebb platánfái a forgalmas utak mentén találhatók.

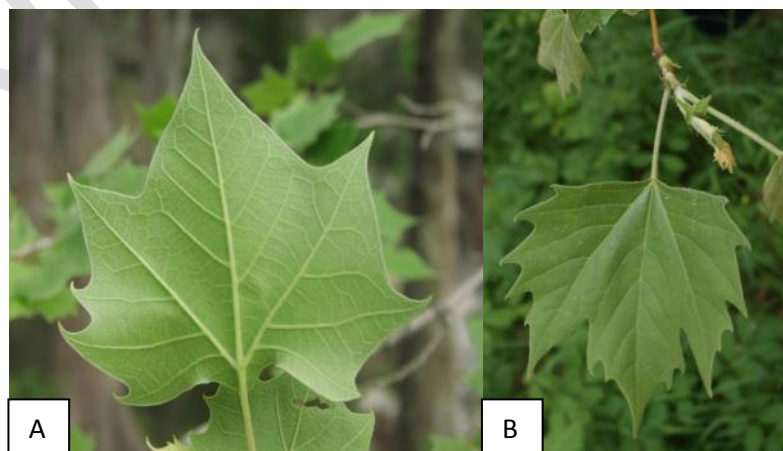
2.4. A kórokozó gazdanövényei és azok fogékonysága

A gomba elsősorban a *Platanus* nemzetségbe tartozó növényeken okoz tüneteket (**Farr és Rossmann, 2013**), de egy alkalommal leírták hárson való megjelenését is (**Sogonov és mtsai., 2007**). **Ubrizsy (1965)** szerint a kórokozó a *Platanus* nemzetség összes faján 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 Észak-Amerika középső és keleti része, ahol a magassága meghaladhatja az 50 m-t (**Tóth, 2012**). A hűvös fekvésű helyeket kedveli, természetes élőhelyén mélyfekvésű talajon, tavak, folyók mentén található meg (**Horánszky, 2001**).

Horánszky (2001) szerint a *Platanus × hispanica* (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 fogékonyságát. A legfogékonyabbnak a 'Saratoga 86-336-C', a legellenállóbbnak a 'Bloodgood' fajta bizonyult. **Tóth (2012)** szerint a 'Budapest' és 'Palóc' fajták sem érzékenyek a betegségre.

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/kozonsages-platan.html>)



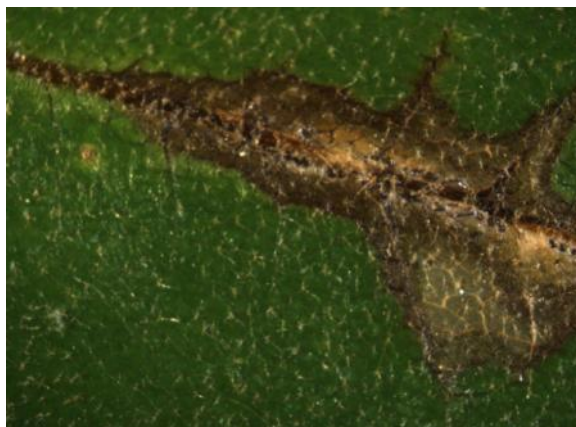
3. ábra: A keleti platán levele

(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 kitöredezik, 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, acervuluszal 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 széllal 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 részekben 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. **Pirone (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 ágreszeket az egészséges részig ajánlatos lemetszeni (**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 platánok esetében is. **Varga (2008)** szerint a krezoxim-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 benzimidazolonokat 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 hatékonyak a gomba ellen.

Létezik egy most még ritkán alkalmazott módszer, amely hatékonyabb lehet a szokásos növényvédő szerek védekezéseknél: az endoterápia (**Pásztor, 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 mindenhova eljut. A fatörzsön fúró segítségével furatokat készítenek és ezekbe fecskendezik be a növényvédő szert, amely közvetlenül a törzsbe kerülve nem érintkezik a környezetével.



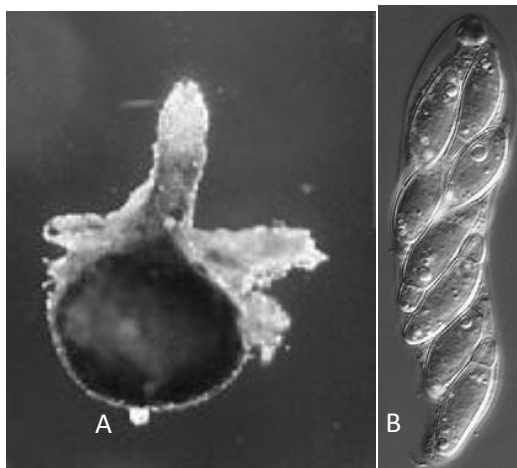
7. ábra: Az endoterápiás kezelés

(Forrás: Pásztor, 2012)

A módszernek számos előnye van. A hasznos szövetek 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, 2012/a; 2012/b).

2.9. A kórokozó ivaros és ivartalan alakjának morfológiai jellemzői

Az *Apiognomonina* nemzetség peritéciumai általában 5-15-ös csoportokban helyezkednek el, de a lehullott levelekben, levélgyegekben, vagy elhalt, de még a fákon maradt levelekben magányosan is állhatnak (Sogonov és mtsai., 2008). Sogonov és mtsai. (2007) szerint az *Apiognomonina veneta* sötétbarna vagy fekete peritéciumai elszórtan, egyenletlenül 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 szájnílás 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)

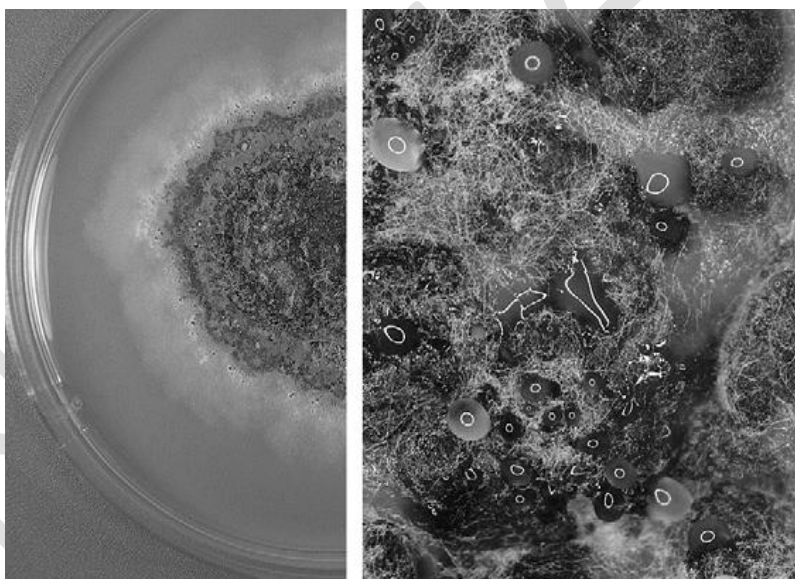
1. táblázat

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, szájníylás 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 × hispanica</i>	Székesfehérvár (idősebb platán)	2013
ZS2	<i>Platanus × hispanica</i>	Budapest, Feneketlen-tó	2013
ZS3	<i>Platanus × hispanica</i>	Székesfehérvár (fiatalabb platán)	2013
ZS4	<i>Platanus × hispanica</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 egyes 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 vizsgálatához.

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 tenyészbélyegeinek 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 leszívuk 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 percre centrifugáltuk. Végül tiszta Eppendorf csőbe 40 μ l 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 μ l (50-80 ng/ μ l) 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 *Apiognomonía veneta* okozta kártétel felvételezése a kijelölt helyszíneken

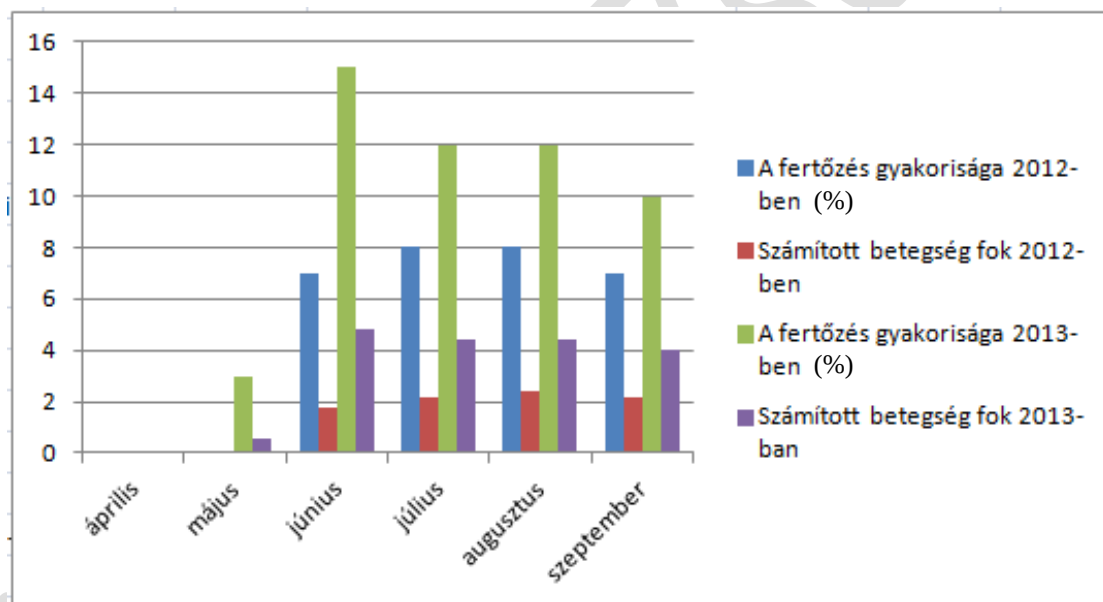
4.2.1. Az idősebb juharlevelű platánfa Székesfehérváron

Székesfehérváron az idősebbik juharlevelű platánon mindkét évben súlyos mértékű fertőzöttséget figyeltem meg. Ezen a helyszínen voltak leginkább szembetűnőek az *Apiognomonía 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

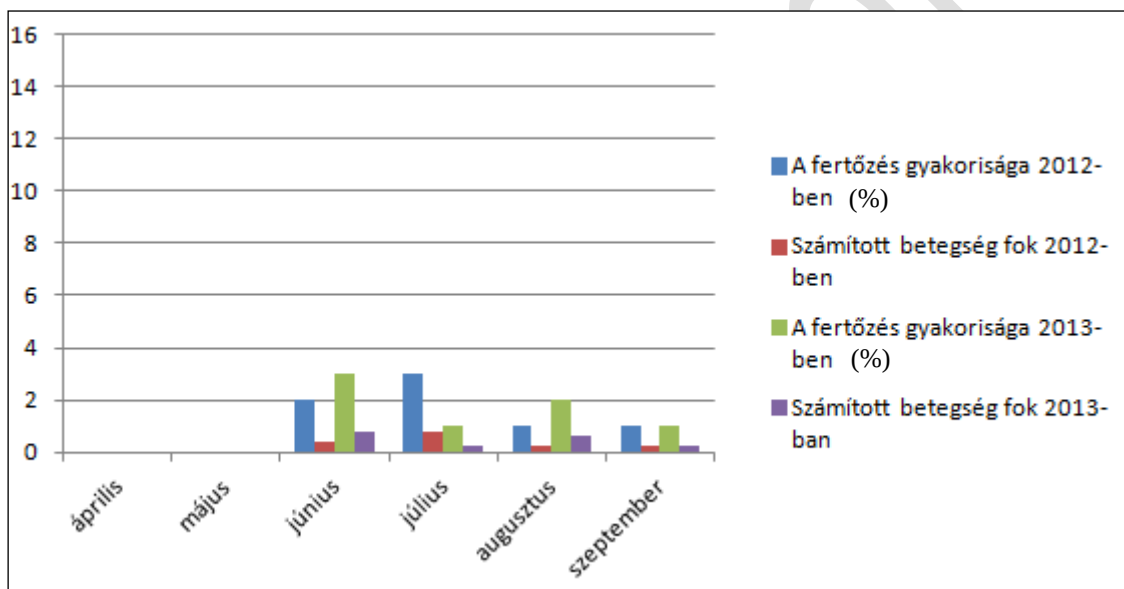
4.2.2. A fiatalabb juharlevelű platán Székesfehérváron

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

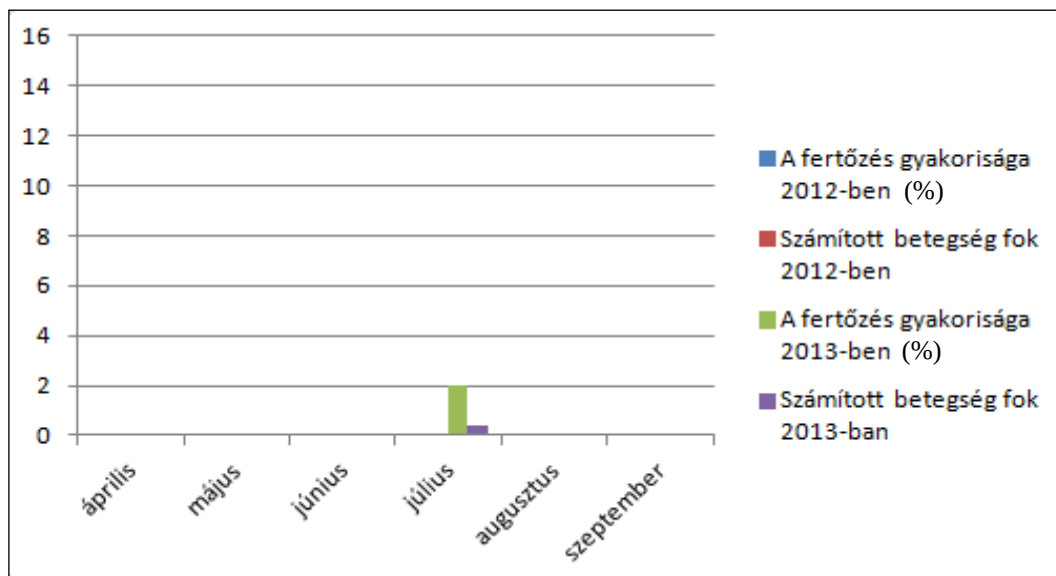
Keleti platán

A keleti platánon egyik évben sem jelentkeztek az apiognomóniás betegség jellemző tünetei a vizsgált növényi részekén. A leveleken tavasszal és nyáron betegségekre 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 érnekróvizist csak nyár közepén figyeltem meg 100/2 db levélen (17. ábra).



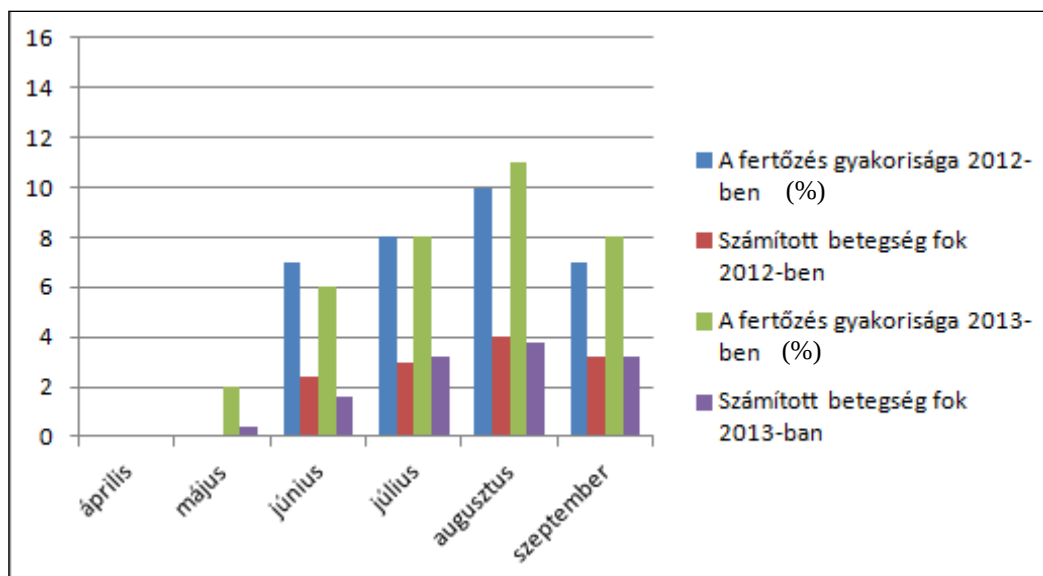
17. ábra: A levéltünetek gyakorisága (%) és a számított betegség fok a Budai Arborétumban 2012-ben és 2013-ban nyugati platánon

Juharlevelű platán

A Szűret 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

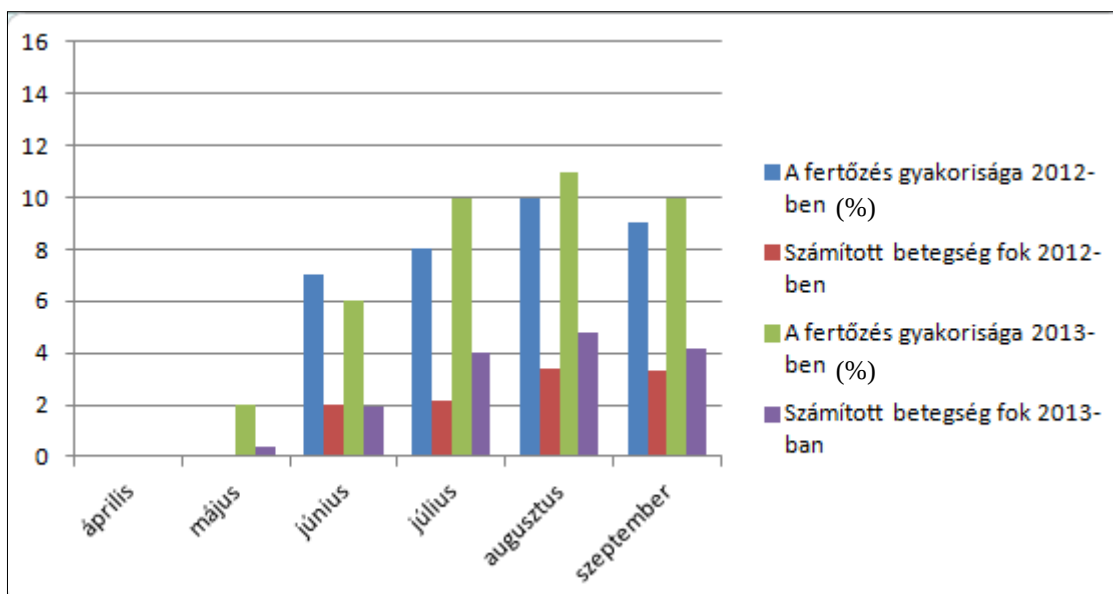
A Feneketlen-tó partján a vizsgált két juharlevelű platánfa egymás mellett helyezkedik el, körülbelül azonos korúak is, mégis különböző mértékű fertőzöttséget figyeltem meg rajtuk.

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

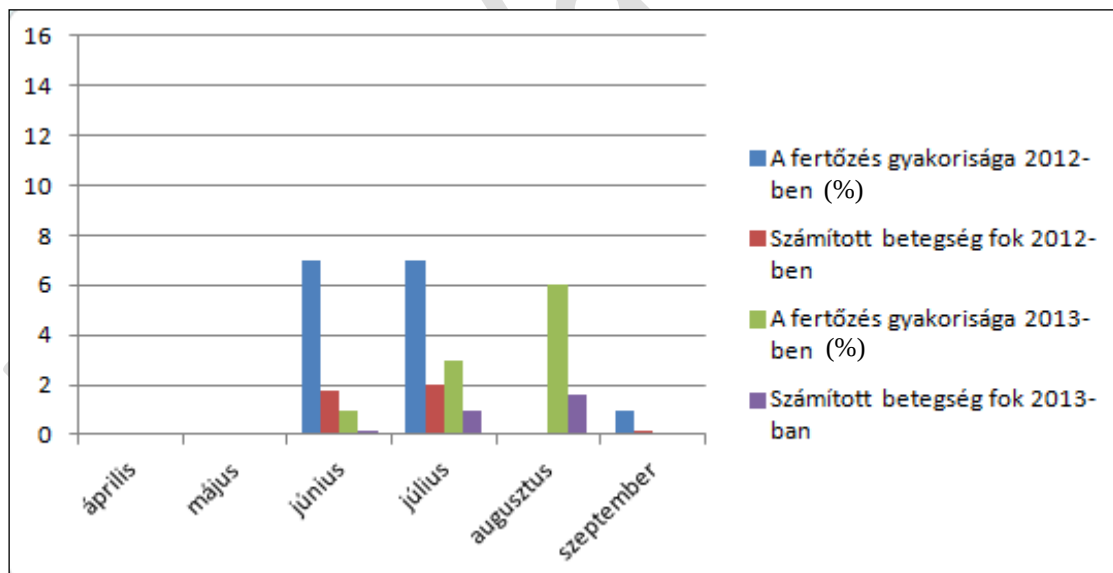
2012 májusában mindkét fa esetében 10%-os hajtáselhalást figyeltem meg. 2013-ban ez a tünet csak kis mértékben (1-2%) jelent meg.

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 nekrozisok 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)

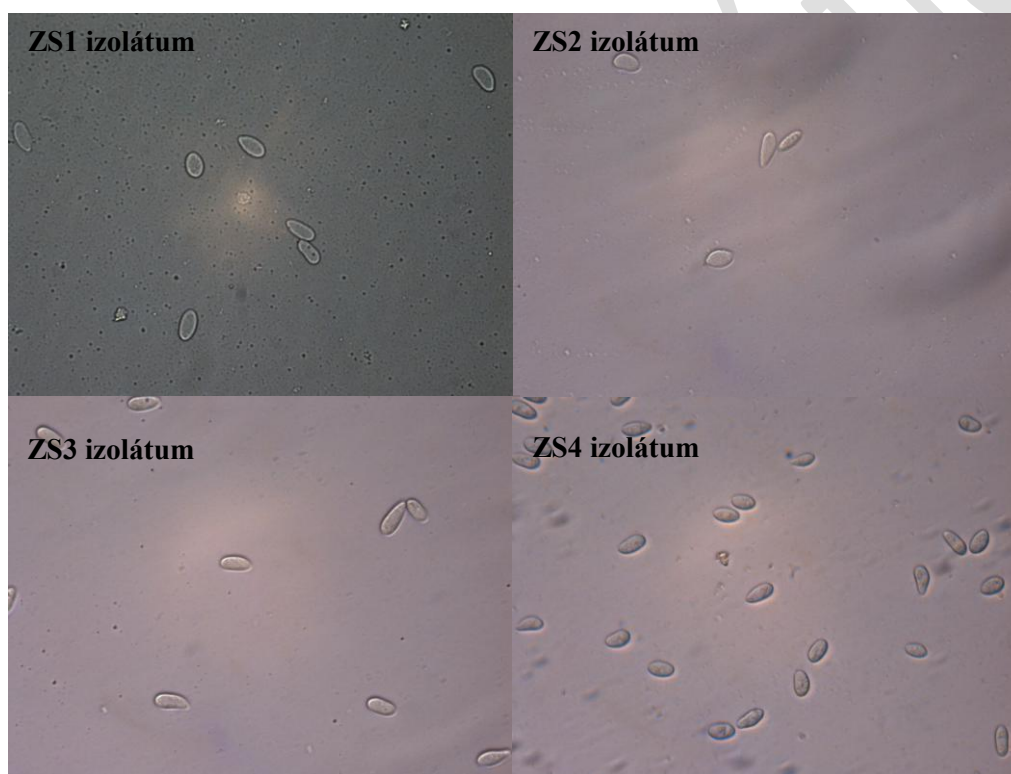


20. ábra: A levéltünetek gyakorisága (%) és a számított betegség fok a Feneketlen-tónál 2012-ben és 2013-ban juharlevelű platán (2. sz. egyedén)

4.3. *Apiognomonía veneta* izolátumok morfológiai és tenyészbélyegei

4.3.1. Az *Apiognomonía veneta* izolátumok morfológiai jellemzői

Az *Apiognomonía veneta* anamorf alakja acervuluszokban képi konídiumait. Az acervuluszok kezdetben szürkés színűek, majd később szürkésfeketék. Alakjukat tekintve oválisak, méretük 0,5 mm alatti. Az acervuluszban szeták képződését 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: *Apiognomonía veneta* izolátumok konídiumai 600x nagyításon

(Fotó: Lohonyai, 2013)

4.3.2. Az *Apiognomonía veneta* izolálása és tenyészbélyegeinek jellemzői

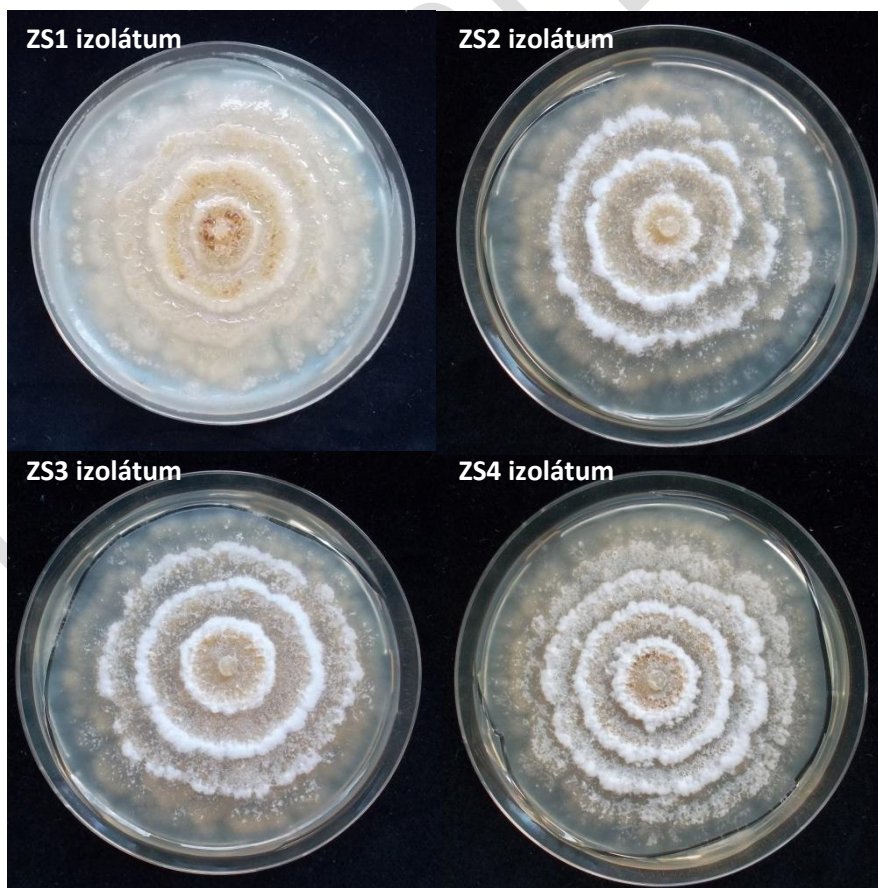
2012 év júliusában és augusztusában többször is megpróbáltuk táptalajon izolálni a kórokozót, de sajnos nem jártunk sikerrel. Az *Apiognomonía veneta* mellett mindig megjelent egyéb szaprofita baktérium vagy gomba is a tenyészetekben, amelytől többszöri átoltás illetve antibiotikus kezelés után sem tudtunk 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 csipkésposzka 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 szövetrészeken.

Az *Apiognomonina veneta* PDA táptalajon szabályos kör alakban növekszik. A telepek széle csipkézett. A tenyészet fonáki része világos, sárgásbarna színű, a színén a fehér színű, sűrű légmiciélium 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 *Apiognomonina 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: *Apiognomonina veneta* izolátumok 12 napos tenészete 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)

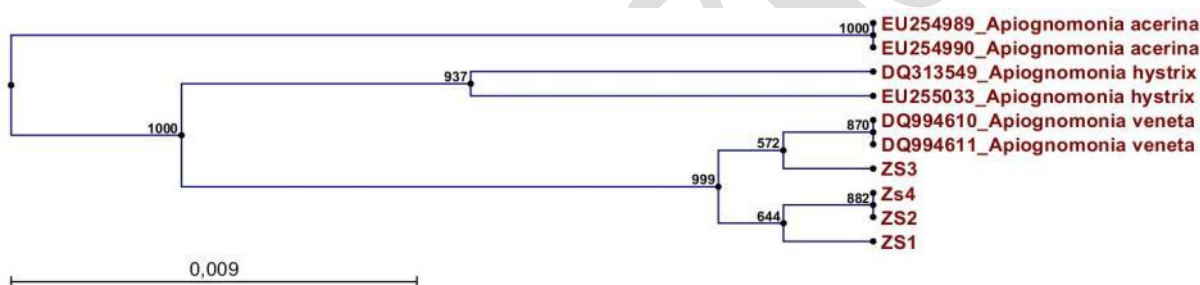


24. ábra: A ZS1-es izolátummal végzett patogenitási teszt eredménye
1 hónappal az inokuláció után
(Fotó: Lohonyai, 2013)

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 99% feletti homológiát mutatnak másik két *Apiognomonina veneta* izolátum szekvenciáival (DQ994610, DQ994611).

Megrajzolva a régió filogenetikai törzsfáját megállapítottuk, hogy az *Apiognomonina veneta* izolátumok a törzsfán 100 %-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 hajtászcúcsok 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, 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 nekrosis, 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 fogékonyágbságbeli vizsgálathoz azonban az általam vizsgált egyedszám mindenképpen kevés. Egyetlen nyugati platán vizsgálata alapján, nem lehet erre vonatkozóan következtetést levonni.

A kórokozó acervuluszai kezdetben szürkések, 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 tenyésztére 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 megfigyeltek a tenyészetekben 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

Apiognomonia 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.

Lohonyai Zsófia

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A platánfák gyorsan növekvő, könnyen szaporítható fák, melyeket 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 tenyészbélyegekkal 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 Fenegetlen-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 tenyészbélyegeik alapján azonosítottam és jellemeztem. Az *Apiognomonia veneta* ivartalan alakja szürkés színű, ovális acervulusokban képi 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 99,9%-os homológiát mutatnak másik két *Apiognomonia veneta* izolátum szekvenciáival (DQ994610, DQ994611). Megrajzolva a régió filogenetikai törzsfáját megállapítottuk, hogy az *Apiognomonia veneta* izolátumok a törzsfán 100%-os bootstrap értékkel jól elkülönülnek a másik két *Apiognomonia* fajtól. Izolátumaink nukleotid sorrendjét elküldtük a nemzetközi adatbázisba, amelyek az első európai adatok a gomba ITS régiójáról.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani konzulenseimnek, Dr. Petrőczy 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.

Lohonyai Zsófia

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/fungalDATABASES/>
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 *Apiognomonina 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-ertesefainkert&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 Aspeitia, 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 Riporter*, 60: 161—162.
35. **Seifers, D. és Ammon V.** 1980. Mode of penetration of sycamore leaves by *Gloesporium platani*. *Phytophatology*, 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. **Tóth I.** 2012. Lomblevelű díszfák, díszcserjék kézikönyve. Budapest, Tarkavirág Kft. p: 412-413.
42. **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.
43. **Tomiczek, C.** 1999. Starkes auftreten des blattbraunepilzes anlaubbaumen. *Forstschutz aktuell*, 20: 23–24.
44. **Ubrizsy G.** 1965. Növénykórtan II. Gombás betegségek, virágos élősködők károsításai. Budapest. Akadémia Kiadó. p: 263.
45. **Varga I.** 2008. Beteg platánok. (<http://veol.hu/hirek/beteg-platanok-1368891>, letöltés időpontja 2013. október 12.)
46. **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.
47. **Vigouroux, A.** 1986. *Platanus* diseases, with special reference to canker stain; the present situation in France. *EPPO Bulletin*, 16 (3): 527–532.
48. **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.
49. **Ubrizsy G. és Vörös J.** 1968. Mezőgazdasági mykologia. Budapest. Akadémia Kiadó. p: 412.
50. **Wittmann, W. és Fickert, W.** 1988. Die Blattbraune der Platane. *Pflanzenschutz*, 5: 4.
51. **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.

DIPLOMAMUNKA LEADÁSI NYILATKOZAT

Alulírott Lohonyai Zsófia (Neptun-kód: HYHUYU) nyilatkozom, hogy az Új adatok a platán apiognomóniás betegségéhez címen benyújtott diplomamunkám saját szellemi termékem. Tudomásul veszem, hogy a Dékáni Hivatalban határidőben történő bemutatás nem jelenti dolgozatom szakmai és tartalmi elfogadását.

Budapest, 2013. 12. 13.

Hallgató aláírása