

DIPLOMADOLGOZAT

Borsos Dóra Piroska

2024.



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Budai Campus

Növényvédelmi Intézet

Növényorvosi mesterképzési szak

***Catharanthus roseus* növényfajt talajból fertőző kórokozók
vizsgálata**

**Belső konzulens: Szendrei Lilla
PhD hallgató**

**Belső konzulens: Dr. Tóth Annamária
egyetemi adjunktus**

**Intézete/tanszéke: Növényvédelmi Intézet
Növénykórtani Tanszék**

Készítette: Borsos Dóra Piroska

TARTALOM

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS.....	4
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	6
2.1. Rózsás meténg kórokozói.....	6
2.2. A dolgozatom alapját képző betegségek bemutatása	7
2.2.1. Fuzáriumos hervadás.....	7
2.2.1.1. A <i>Fusarium</i> nemzetség rendszertani besorolása	8
2.2.1.2. A <i>Fusarium</i> nemzetség biológiája.....	8
2.2.1.3. A <i>Fusarium</i> fajok által okozott tünetek.....	8
2.2.1.4. A <i>Fusarium</i> nemzetség morfológiája	9
2.2.1.5. Biológiai védekezés lehetőségei <i>Fusarium</i> fajok ellen	10
2.2.1.6. Dísznövénytermesztésben jelentős <i>Fusarium</i> fajok	10
2.2.2. Fitofthórák hervadás	11
2.2.2.1. A <i>Phytophthora</i> nemzetség rendszertani besorolása.....	11
2.2.2.2. A <i>Phytophthora</i> nemzetség biológiája	11
2.2.2.3. A <i>Phytophthora</i> fajok által okozott tünetek	12
2.2.2.4. A <i>Phytophthora</i> nemzetség morfológiája	13
2.2.2.5. Biológiai védekezés lehetőségei <i>Phytophthora</i> fajok ellen.....	14
2.2.2.6. Dísznövénytermesztésben jelentős <i>Phytophthora</i> fajok	15
3. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	16
3.1. A vizsgálat helye és ideje	16
3.2. A vizsgálat anyaga.....	16
3.2.1. Növények	16
3.2.2. Vizsgálatba vont izolátumok.....	17
3.2.3. Táptalajok, primerek	17

3.2.4. Felhasznált eszközök	18
3.3. A vizsgálat módszere	18
3.3.1. Növényi részek gyűjtése és tárolása	18
3.3.2. Tünetek jellemzése.....	18
3.3.3. A kórokozó izolálása táptalajon, tiszta tenyészet és az antagonista szervezet tenyészetének előállítása	18
3.3.4. Morfológiai vizsgálatok: a szaporító képletek és tenyészbélyegek jellemzése	19
3.3.5. Patogenitási teszt.....	19
3.3.6. Molekuláris vizsgálatok	20
3.3.7. Növénypatogén és antagonista szervezet kölcsönhatása	21
4. EREDMÉNYEK	23
4.1. A <i>Fusarium</i> spp. által okozott tünetek.....	23
4.2. A <i>Fusarium</i> spp. morfológiai bélyegei.....	24
4.2.1. A tenyészetek morfológiai jellemzői	24
4.2.2. A szaporítóképletek morfológiai jellemzői.....	25
4.3. A <i>Phytophthora cactorum</i> által okozott tünetek.....	27
4.4. A <i>Phytophthora cactorum</i> morfológiai bélyegei.....	28
4.4.1. A tenyészetek morfológiai jellemzői	28
4.4.2. A szaporítóképletek morfológiai jellemzői.....	28
4.5. Patogenitási teszt	29
4.6. Molekuláris vizsgálatok.....	30
4.6.1. Azonosítás az ITS régió alapján.....	30
4.6.1.1. <i>Fusarium</i> fajok azonosítása.....	30
4.6.1.2. <i>Phytophthora</i> faj azonosítása	31
4.6.2. Azonosítás EF1 α gén alapján.....	32
4.7. Antagonista szervezet hatékonyságának vizsgálata in vitro	33
5. KÖVETKEZTETÉSEK	35

6. ÖSSZEFOGLALÁS.....	37
7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	38
8. IRODALOMJEGYZÉK.....	39

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

A rózsás meténg az *Apocynaceae* családba, azon belül a *Catharanthus* nemzetségbe tartozó dísz- és gyógynövény, amely az Indiai-óceánon található Madagaszkáron őshonos. A világ számos trópusi és szubtrópusi területén elterjedt növény, több országban is termesztik dísznövénycént (Mishra és Verma, 2017; Paarakh és mtsai., 2019). A rózsás meténg eredeti élőhelyén örökzöld, lágyszárú növényfaj, amely akár 1 méter magasra is megnőhet. Levelei átellenesek, oválisak, kissé fényesek, szőrtelenek és körülbelül 3-9 cm hosszúak, rövid levélnyéllel. A virágok az *Apocynaceae* családra jellemző ötös tagoltsággal rendelkeznek, a szirmok fehérek vagy sötét rózsaszínűek, melyek az alapjuknál pártacsövé fornak össze és sötétebb színűek (Aruna és mtsai., 2015; Mishra és Verma, 2017; Paarakh és mtsai., 2019). Indiában évszázadok óta használják a rózsás meténget az ajurvédikus gyógyászatban, többek között a daganattellenes, antimikrobiális és antioxidáns hatásai miatt. A növényben közel 130 féle alkaloid található, ilyen hatóanyagok például a vinblasztin, a vinkrisztin és a vinkamin, amelyeket már a modern gyógyászatban is alkalmaznak különböző rákos megbetegedések kezelésénél (Aslam és mtsai., 2010; Mishra és Verma, 2017; Paarakh és mtsai., 2019).

Ahogy a legtöbb dísznövény, így a rózsás meténg termesztését is számos kártevő és kórokozó befolyásolja. Ebbe beletartoznak a talajból fertőző kórokozók is, amelyek főként a csíranövényeket támadják és gyökérszervi rothadást, csíranövények hervadását és pusztulását okozhatják. Azonban a gyengébben fejlett egyedeket is megfertőzhetik, ilyenkor a levélzet hervadásában is megnyilvánulhat a fertőzés. Ezeket a betegségeket különböző nemzetségekhez tartozó növénypatogén gomba és baktérium fajok okozzák, többek között a *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Alternaria* spp. és *Erwinia* spp. A rózsás meténg esetében több növénypatogén gombát is említenek a szakirodalomban, mint például a *Fusarium equiseti*, a *F. oxysporum* és *F. solani* fajokat (Yasir és Al-Maliky, 2023), melyek hervadást okoznak. Az ilyen tüneteket mutató növények eladhatatlanok a piacon, így komoly gazdasági kárt okoznak a termesztőknek. A károsítók elleni védelmet nagyban megnehezíti a növényvédőszeres hatóanyagainak folyamatos kivonása, azonban a talajból fertőző kórokozók ellen sikeresen alkalmazhatunk biológiai növényvédelmet. Jelenleg Magyarországon is több biológiai növényvédő szernek van engedélye, többek között a *Bacillus amyloliquefaciens* különböző törzseinek, melyek széles hatásspektrummal rendelkeznek és a talaj felett, illetve talajba dolgozva is kijuttathatóak. Emellett engedéllyel rendelkezik még a *Trichoderma asperellum* (korábbi nevén *T. harzianum*), illetve a *T. atroviride* is, melyek amellett, hogy elpusztítják a

növénypatogén kórokozókat, erősítik a növények biotikus és abiotikus stresszel szembeni ellenállóképességüket is (Singh és mtsai., 2018, Agromedium, 2024).

2022 őszén a Budai Arborétumban ilyen hervadásos tüneteket mutató rózsás meténg tővekre lettünk figyelmesek, illetve 2023 tavaszán egy dísznövénytermesztő is hasonló tünetek miatt kereste fel a Növénykórtani Tanszéket, ezért célul tűztük ki a kórokozók azonosítását mind klasszikus, mind molekuláris módszerekkel. Továbbá célunk megvizsgálni, hogy az általunk izolált kórokozók elleni védekezéshez alkalmas-e antagonistá szervezet használata.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Rózsás meténg kórokozói

Számos termesztésbe vont dísznövényt, így a *Catharanthus roseus*-t is több kórokozó fertőzheti meg. Az alábbi táblázatban gyűjtöttem össze ennek a növényfajnak a kórokozóit (1. táblázat).

1. Táblázat: *Catharanthus roseus* kórokozói

(Forrás: saját munka)

Kórokozó neve	Forrás
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Kharwar és mtsai., 2008
<i>Alternaria alternata</i>	Kharwar és mtsai., 2008
<i>Alternaria longipace</i>	Kharwar és mtsai., 2008
<i>Aspergillus niger</i>	Kharwar és mtsai., 2008
<i>Aspergillus terreus</i>	Kharwar és mtsai., 2008
<i>Bipolaris</i> sp.	Kharwar és mtsai., 2008
<i>Botrytis cinerea</i>	Nejat és mtsai., 2015
<i>Chaetomium globosum</i>	Kharwar és mtsai., 2008
<i>Chloridium virescenc</i>	Kharwar és mtsai., 2008
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Kharwar és mtsai., 2008
<i>Colletotrichum dematium</i>	Nejat és mtsai., 2015
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Nejat és mtsai., 2015
<i>Colletotrichum</i> sp.	Kharwar és mtsai., 2008; Ayob és Simarani, 2016
<i>Curvularia lunata</i>	Kharwar és mtsai., 2008
<i>Drechslera</i> sp.	Kharwar és mtsai., 2008
<i>Fusarium equiseti</i>	Yasir és Al-Maliky, 2023
<i>Fusarium moniliformae</i>	Kharwar és mtsai., 2008
	Kumar és mtsai., 2013; Nejat és mtsai., 2015; Tu és mtsai., 2021; Al-Ghazali és mtsai., 2022; Nguyen és mtsai., 2022;
<i>Fusarium oxysporum</i>	Yasir és Al-Maliky, 2023
<i>Fusarium roseum</i>	Kharwar és mtsai., 2008

<i>Fusarium solani</i>	Nejat és mtsai., 2015; Ayob és Simarani, 2016; Nguyen és mtsai., 2022; Yasir és Al-Maliky, 2023
<i>Humicola</i> sp.	Kharwar és mtsai., 2008
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Ayob és Simarani, 2016
<i>Nigrospora oryzae</i>	Kharwar és mtsai., 2008
<i>Nigrospora sphaerica</i>	Ayob és Simarani, 2016
<i>Penicillium citrinum</i>	Kharwar és mtsai., 2008
<i>Penicillium crysogenum</i>	Kharwar és mtsai., 2008
<i>Phytophthora cactorum</i>	Abad és mtsai., 1994
<i>Phytophthora nicotianae</i>	Moralejo és mtsai., 2009; Nejat és mtsai., 2015, Baysal-Gurel és mtsai., 2022
<i>Phytophthora palmivora</i>	Patel és mtsai., 2016
<i>Phytophthora parasitica</i>	Hossain és mtsai, 2009; Nejat és mtsai., 2015
<i>Phytophthora tropicalis</i>	Nejat és mtsai., 2015
<i>Puccinia vincae</i>	Nejat és mtsai., 2015
<i>Pythium aphanidermatum</i>	Nejat és mtsai., 2015
<i>Rhizoctonia solani</i>	Nejat és mtsai., 2015
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Nejat és mtsai., 2015
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Nejat és mtsai., 2015

2.2. A dolgozatom alapját képző betegségek bemutatása

2.2.1. Fuzáriumos hervadás

A *Fusarium* nemzetség az egyik legjelentősebb növénypatogén csoport, óriási gazdasági károkat okozhatnak az ide tartozó fajok a mezőgazdaság minden területén. A legnagyobb károkat okozó fajok közé tartozik a *Fusarium oxysporum* és a *F. graminearum* (Summerell, 2019). A *Fusarium oxysporum* az egyik legtöbbet kutatott *Fusarium* faj, melynek számos, a rothadásért és hervadásért felelős törzsével találkozhatunk, a *F. graminearum* pedig a búzán megjelenő kalászfuzáriózisért felelős (Lecomte és mtsai., 2016; Summerell, 2019).

2.2.1.1. A *Fusarium* nemzetség rendszertani besorolása

A *Fusarium* nemzetség a Gombák országába és a *Dikarya* alországba, azon belül az *Ascomycota* törzs *Pezizomycotina* altörzsébe, ezen belül a *Sordariomycetes* osztály *Hypocreomycetidae* alosztályába, a *Hypocreales* rend *Nectriaceae* családjába tartozik (Mycobank1, 2023). A *Fusarium* nemzetséget legelőször Heinrich Friedrich írta le 1809-ben (Nikitin és mtsai., 2023).

2.2.1.2. A *Fusarium* nemzetség biológiája

A *Fusarium* nemzetség képviselői világszerte elterjedtek, általában a talajban vagy növényi maradványokban élnek, de megtalálhatók a levegőben, a vízben, élő növényekben és rovarokban is (Nikitin és mtsai., 2023). A növénypatogén fajok közül a legtöbb hemibiotróf életmódot folytat, ugyanis a korai fejlődési szakaszban a kórokozó az élő gazdanövénytől függ. Későbbi fejlődési szakaszban a gomba nekrotrof életmódra vált és végül teljesen elpusztítja a gazdanövényt. Egyes fajok közvetlenül a gazdanövényt fertőzik, míg más fajok csak a sebzéseken tudnak bejutni a gazdaszervezetbe (Zakaria, 2023). A növények elsődleges fertőzése a talajban lévő növényi maradványokon áttelelt peritéciumokból vagy klamidospórákból indul. Tavasszal a makrokonídiumok, mikrokonídiumok és askospórák széllel terjedve és megtapadva a gazdanövényen vagy a sebzéseken keresztül bejutva megfertőzhetik a csíranövényeket. Később ezekből a fertőzött növényekből kerülnek vissza a talajba az áttelelő képletek. Amennyiben már fertőzött mag kerül be a talajba, abban az esetben már a csíranövényen is megjelennek a betegsége utaló tünetek (Nikitin és mtsai., 2023).

A nemzetség fajai világszerte jól ismert kórokozói számos kultúr- és dísznövénynek, amelyek a patogenitáson kívül még toxinok egész skáláját is termelhetik. Ilyen termelt mikotoxinok például a fumonizin, moniliformin és beauvericin, melyek egyaránt veszélyesek az emberekre és az állatokra is (Armengol és mtsai., 2005, Summerell, 2019).

2.2.1.3. A *Fusarium* fajok által okozott tünetek

A *Fusarium* fajok által okozott tünetek megjelenhetnek már a termesztés alatt is, illetve a tárolás során is. Kétféle tünetegyüttest okozhatnak: hervadást, illetve gyökérnyaki rothadást. A hervadás általában az egész növényt érinti, de rothadás előfordulhat a tárolt növényi részeken is, például a tulipánhagymán. A gomba a gyökérzeten keresztül hatol be a növénybe, majd a xilémet elérve elkezd kolonizálni a növényt. Az első látható tünetek közé tartozik a levelek

fokozatos hervadása és sárgulása. Gyökérszervi rothadás esetében a gomba elkezd lebonthatni a növény kéregét, ezáltal barnás-feketes foltokat, végül pedig gyökérszervi rothadást okoz (Lecomte és mtsai., 2016).

Azok a *Catharanthus roseus* növények, melyek szintén valamelyik *Fusarium* fajjal fertőztek, hasonló tüneteket mutatnak: gyenge növekedés, levélsárgulás- és hervadás, illetve gyökérszervi rothadás. A kórokozó gyakran fertőzi a csíranövényeket is, amely csírákori pusztulásban nyilvánul meg, illetve gátolhatja a magok csírázást is (Al-Ghazali és mtsai., 2022).

2.2.1.4. A *Fusarium* nemzetség morfológiája

A *Fusarium* nemzetség tagjai igen nagy változatosságot mutatnak mind morfológiai, mind pedig fiziológiai jellemzők tekintetében. A *Fusarium* fajok háromféle spórával fejleszthetnek: makrokonídium, mikrokonídium és klamidospóra. Néhány fajnál egyszerre jelen lehet mindhárom spóra, míg más fajoknál nem. A makrokonídiumok a sporodóchiumon jönnek létre, amely monofialidokból áll. A makrokonídiumok a *Fusarium* fajok esetében általában sarló alakúak. A mikrokonídiumok alakja és mérete igen eltérő lehet, általában ovális alakúak és egysejtűek, rövid konídiumtartón termelődnek. A különböző konídiumok méretei is variabilitást mutatnak. A harmadik spóratípus a klamidospóra, amely egy vastag falú, magas lipidtartalmú, kitartó spóra, a kedvezőtlen körülmények átvészelésére szolgál (Nelson és mtsai., 1994; Moretti, 2009).

A *Fusarium* fajok tenyésztésének színe a barnától kezdődően, a narancssárgán keresztül egészen a szürkés-fehéres színekig változhat, fajtól függően. Egyes fajok lassabban, mások kimondottan gyorsan növekednek a táptalajon. Ezen kívül vizsgálható még a másodlagos metabolitok és a mikotoxinok jelenléte, illetve összetétele is (Leslie és Summerell, 2006a).

A *Catharanthus roseus* növényfaj esetében a legtöbbször a *Fusarium oxysporum* fajt írták le. Ennek a növénypatogén fajnak a burgonya dextróz agar (PDA) táptalajon megjelenő morfológiája széles skálán mozog. A tenyésztésben képződő légmicélium lehet laza szerkezetű vagy sűrű is, a színe fehértől egészen a narancssárgán át a halványliláig terjedhet. Egyes tenyésztések esetében akár halvány barna vagy sötétebb feketés szklerócium is képződhet. A legtöbb izolátum esetében megjelennek a hosszúkás, sarló alakú makro- és az ovális mikrokonídiumok, a sporodóchiumok (konídiumtartó párna) és a klamidospórák is (Leslie és Summerell, 2006b). A *Fusarium oxysporum* esetében a mikrokonídiumok átlagosan 5,0 µm hosszúságúak és 2,25 µm szélességűek, míg a makrokonídiumok mérete átlagosan 26,5 µm

hosszúság és 3,6 µm szélesség között mozog és átlagosan 3 szeptummal rendelkeznek (Hafizi és mtsai., 2013; Patra és Biswas, 2017; Hegde és mtsai., 2018).

2.2.1.5. Biológiai védekezés lehetőségei *Fusarium* fajok ellen

A talajban élő *Fusarium* fajok gyengültségi paraziták, így az ellenük való védekezés alappillére a fertőzés prevenciója. A fertőzés bekövetkezése többféleképpen is megelőzhető, ügyelni kell a higiénára, kórokozótól mentes szaporítóanyagot és ültetőközeget kell alkalmazni, megfelelő kondícióban kell tartani a növényt, be kell tartani a vetésforgót (amennyiben nem konténeres termesztésről van szó), illetve az öntözővíz tisztaságára is oda kell figyelni. Emellett többféle kémiai növényvédőszer is alkalmazható, azonban a negatív környezet- és humántoxikológiai hatásai és az újabb szabályozások miatt egyre többen fordulnak a biológiai védekezés irányába. Erre többféle megoldást is találhatnak a szakemberek, többek között antagonista szervezeteket, növényi kivonatokat és illóolajokat. Az antagonista szervezetek közül legnagyobb számban a *Trichoderma* fajokat alkalmazzák. Ezek az antagonista szervezetek felismerik és kapcsolódnak a növénypatogén gombák hifáival, majd különféle sejtfalbontó enzimeket termelnek, melyek legyengítik a kórokozó sejtfalát, ezáltal az antagonista szervezet be tud jutni. Ha az antagonista penetrált, az általuk termelt különböző metabolitokkal megzavarják a gazdaszervezet anyagcseréjét. Végül az antagonista szervezet teljes inváziója történik a patogén felett és cellulázok segítségével lebontja a maradék micéliumot (Benhamou és Chet, 1997). Azonban emellett nem-patogén *Fusarium* és *Penicillium* fajokkal is jó eredményeket értek el a *Fusarium* fajok elleni védekezésben (Lecomte és mtsai., 2016). Magyarországon a jelenleg elérhető biológiai növényvédő szerekben a következő törzsek találhatóak meg: *Trichoderma asperellum* (korábban *T. harzianum*) T34-es törzse, illetve a *T. atroviride* SC1-es törzse (Nébih, 2023).

2.2.1.6. Dísznövénytermesztésben jelentős *Fusarium* fajok

Ahogy szinte minden termesztett kultúrnövényt, úgy a dísznövényeket is megfertőzheti több, a *Fusarium* nemzetséget képviselő növénypatogén faj. Ezek a talajból fertőző gombák általában gyökérszervi rothadást, levél- és hajtáshervadást, csírákori pusztulást, illetve súlyos esetben a kifejlett növények teljes elhalását is okozhatják. Orchidea fajoknál több *Fusarium* faj, köztük a *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. solani* és *F. subglutinans*, *F. begoniae*, *F. circinatum* is okozhat tüneteket, mint a gyökér- és hajtásrothadás, nekrotikus levélfoltosság és levélhervadás (Srivastava és mtsai., 2018). Egyéb dísznövényen is kimutattak már *Fusarium*

fajokat, többek között: *Fusarium agapanthi* (*Agapanthus africanus* növényekről), *F. anthophilum* (*Dasyilirion longissimum*-ról) és *F. fujikuroi* (*Trachycarpus princeps*-ről), ahol szintén csírákori pusztulásban, levélhervadásban és levélsárgulásban, illetve gyökérrothadásban nyilvánultak meg a tünetek (Guarnaccia és mtsai., 2019).

Catharanthus roseus-t is számos *Fusarium* faj megtámadhatja, köztük a *F. oxysporum*, amely gyökérrothadást, és csírákori pusztulást okoz (Kumar és mtsai., 2013; Nejat és mtsai., 2015; Tu és mtsai., 2021; Al-Ghazali és mtsai., 2022; Yasir és Al-Maliky, 2023). Nguyen és munkatársai (2022) *F. oxysporum* mellett *F. solani*-t is izoláltak fertőzött rózsás meténg növényekből. Ezeken kívül gyökér-, levél- és hajtásmintákból *Fusarium moniliformae*-t, illetve *F. roseum*-ot is izoláltak már kutatók (Kharwar és mtsai., 2008).

2.2.2. Fitoftórák hervadás

Eddig több, mint 300 *Phytophthora* fajt határoztak meg kutatók és egyes feltételezések szerint még 100-200 faj leírása várható a jövőben (Ho, 2018). A nemzetség tagjai sok, gazdasági szempontból igen fontos növényeket is megfertőznek, többek között zöldségféléket és dísznövényeket, ezáltal komoly károkat okozva (Patel és mtsai., 2016).

2.2.2.1. A *Phytophthora* nemzetség rendszertani besorolása

A *Phytophthora* nemzetség jelenleg a *Chromista* országba, azon belül a *Oomycota* törzs *Oomycetes* altörzsébe, ezen belül a *Peronosporales* rend *Peronosporaceae* családjába tartozik (Mycobank2, 2023). A nemzetséget elsőként de Bary írta le 1876-ban, a *Phytophthora infestans* fajjal (Ho, 2018).

2.2.2.2. A *Phytophthora* nemzetség biológiája

A *Phytophthora* nemzetségbe tartozó növénypatogén fajok szintén talajban élő, nedvességet igénylő mikroorganizmusok. Az áttelelés után, ami általában micéliummal, ritkább esetben oospróráként történik, a csírázó növényeken kialakuló speciális hifán, a sporangiumtartón jönnek létre a sporangiumok. A sporangiumtartó általában éjszaka alakul ki, így nincs kitéve az UV-sugárzásnak. Az itt létrejövő sporangiumok 7-13 °C között már csírázni kezdenek abban az esetben, ha valamilyen nedvesség is rendelkezésükre áll. A sporangiumok csírázása kétféleképpen történhet: direkt módon csírtömlőt növesztenek vagy indirekt módon flagellummal rendelkező zoospórákat hoznak létre és ezek fertőzik meg a növényt (Tsedaley, 2014). Ezek a zoospórák a két flagellum segítségével mozognak a vízben és jutnak el a

gazdanövényig. A növényen a csíratömlő segítségével jutnak be a sztrómákon vagy az epidermiszen keresztül, majd micéliummal hatolnak át a sejtek között, a sejtbe jutáshoz hausztóriumot fejlesztenek, mely segítségével felveszik a tápanyagokat. Később, amikor a növényi sejtek elhalnak a fertőzés hatására, a gomba továbbterjed a még egészséges növényi részek felé. Ezáltal a növény teljes asszimilációs felületét elpusztíthatja, melynek következtében a gazdanövény is elhal. A *Phytophthora* szaporítóképletei a csapadékkal és az elhalt növényi részekkel kerülnek vissza a talajba, ahonnan tavasszal újra fertőzhetnek (Tsedaley, 2014; Boevink és mtsai., 2020).

2.2.2.3. A *Phytophthora* fajok által okozott tünetek

A nemzetség fajai különböző tüneteket okozhatnak, attól függően, hogy milyen gazdanövényen, mely *Phytophthora* faj okozza azokat. Fásszárú növényeken, például tölgyfán megjelenő, *Phytophthora ramorum* általi fertőzés legtöbbször nagy méretű, nedvedző, rákos sebekben és levélnekrozisban nyilvánul meg. A babéron a *P. nemorosa* és *P. pseudosyringae* barna léziókat okoz, amelyek gyakran klorotikus udvarral határoltak (Wickland és mtsai., 2008). A *P. cactorum* termesztett szamócán a növény tőrothadását és a terméshéj rothadását okozza, almán gyökérnyak- és gyökérrothadást, míg nyírfán hajtáson megjelenő léziókat okoz. Ez a kórokozó rododendron bokrokon is megjelenhet, ahol a fertőzés gyökérrothadással kezdődik, később a hajtások és a levelek is elhalnak, majd végül az egész növény elpusztul (Hantula és mtsai., 2000).



1. ábra: *Phytophthora* sp. által okozott levélsárgulás-és hervadás *Catharanthus roseus* töveken

(Fotó: R. Wick, University of Massachusetts Amherst)

Catharanthus roseus növények esetében több tanulmányban is beszámoltak már *Phytophthora* fajok (többek között *P. cactorum*, *P. nicotianae* és *P. palmivora*) által okozott tünetekről, melyek a gyökérzetben és a föld feletti részeken is megjelentek (**1. ábra**) (Abad és mtsai., 1994; Moralejo és mtsai., 2009; Nejat és mtsai., 2015; Patel és mtsai., 2016; Baysal-Gurel és mtsai., 2022). A gyökérnyaki rothadás igen jelentős tünet, főként gyakori öntözés mellett, amely elengedhetetlen a természetésénél. A föld feletti részeken jelentkező tünetek eleinte apró, vizenyős foltokban jelennek meg, főként a hajtások csúcsain vagy a levélgyeleteken. Később ezek a foltok nagyobbá és sötétbarna/fekete színűvé válnak, körbe ölelhetik az egész hajtást, amelynek következtében 1-2 héten belül az egész növény elpusztulhat (**2. ábra**) (Baysal-Gurel és mtsai., 2022).



2. ábra: *Catharanthus roseus* hajtásán megjelenő, *Phytophthora* sp. által okozott barnás-feketés, rothadó foltok

(Fotó: R. Wick, University of Massachusetts Amherst)

2.2.2.4. A *Phytophthora* nemzetség morfológiája

A *Phytophthora* fajok az oospóras gombák közé tartoznak, könnyen azonosíthatók a kezdetben derékszögben elágazó, nem-szeptált hifákról (Ho, 2018). Néhány, a nemzetségbe tartozó faj heterotallikus, vagyis az A1 és A2 párosodási típusoknak térben és időben is találkozniuk kell, hogy létrejöhessen az oospóra, amely a *Phytophthora* fajok ivaros úton létrejövő képlete. Amennyiben az A1 és A2 típusok egymás mellett nőnek, a női hifa átnő az anterídiumon és kialakul az oogónium. Az anterídium megtermékenyíti az oogóniumot és végül létrejön az oospóra. A *Phytophthora cactorum* esetében az oogóniumok és az oospórák mérete is kismértékben eltérő lehet már abban az esetben, ha különböző gazdanövényekről izolálják

azokat. Hantula és mtsai. (2000), illetve Cai és mtsai. (2021) kísérleteiben összesen 5 eltérő növényfajról izoláltak *P. cactorum* kórokozót, az oospórák átmérőjének mérete átlagosan 16,2-34,9 µm között volt, az oogóniumok átmérője pedig 19,1-40,3 µm között mozgott. Ivartalan szaporodás esetén a gomba a micéliumán ivartalan úton létrehozza a sporangiumtartót, amelyek végződésin kialakulnak a citrom alakú, vastag falú sporangiumok (Tsedaley, 2014). *Phytophthora cactorum* esetében a sporangiumok mérete szintén kismértékben változó lehet, ezek átmérője átlagosan 30,5-39,1 µm közé esik (Cai és mtsai, 2021). Szintén határozóbélyegként szolgálhatnak a sporangiumokban kialakuló, két flagellummal rendelkező zoospórák is (Ho, 2018). PDA táptalajon a *Phytophthora cactorum* általában fehér, laza szerkezetű, matt felszínű, szabályos szegélyű telepeket alkot (Milenković és mtsai., 2014; Mészka és Michalecka, 2016). Egyes szerzők enyhe légmicélium képződést is megfigyeltek (Belisario és mtsai., 1997). Milenković és mtsai. (2014) megfigyelései alapján a tenyészetek 25°C körüli hőmérsékleten növekedtek a legoptimálisabban.

A *Catharanthus roseus* növényfajról már többször leírt *Phytophthora nicotianae* is heterotallikus módon hozza létre az ivaros képleteit, az oospórákat, melyek átmérője átlagosan 24 µm. A klamidospórák a legtöbb tenyészetben bőségesen termelődnek. A sporangiumok alakja az ellipszisen át egészen a gömb alakig változhat, megtalálható rajta a papilla. Ennek a fajnak az optimális inkubációs hőmérséklete 27-32°C között mozog (Drenth és Sendall, 2021).

2.2.2.5. Biológiai védekezés lehetőségei *Phytophthora* fajok ellen

A *Phytophthora* fajok szintén talajban élő, növénypatogén kórokozók, ezért az ellenük való védekezés alapját az alapvető higiénia (például megfelelő és kórokozóktól mentes közeg), a helyes fajtaválasztás és a vetésforgó adja, ugyanúgy, mint a *Fusarium* fajok esetében. A helyes agrotechnika mellett használhatunk kémiai védekezést is, de a folyamatos növényvédőszer-kivonások miatt egyre több termesztő keresi a biológiai megoldásokat. A talajból fertőző *Phytophthora* fajok ellen szintén *Trichoderma* fajokat alkalmaznak legnagyobb arányban. A *Trichoderma* nemzetségből több fajt is bevontak a kórokozók elleni védekezésbe: *Trichoderma asperellum* (korábban *T. harzianum*), *T. viride*, *T. reesei* és *T. virens*. Az első 3 faj alkalmazása szintén elősegítette a növények kondíciójának javulását és a gyökerek növekedését is (de Andrade Lourenço és mtsai., 2022). Magyarországon jelenleg a fentebb említett két fajnak van engedélye (lsd. 1.1.1. Biológiai védekezés lehetőségei *Fusarium* fajok ellen). *Trichoderma* fajokon kívül egyéb antagonista szervezetekkel is védekezhetnek a termesztők a fitoftóras rothadás ellen. Külföldön végzett kísérletekben jó eredményeket értek

el még *Pseudomonas fluorescens*-szel és különböző *Bacillus* fajokkal is. Jelenleg Magyarországon is engedéllyel rendelkezik a *B. subtilis* QST 713-es törzse, illetve a *B. amyloliquefaciens* FZB 24-es és MBI 600-as törzse és a *Bacillus amyloliquefaciens subsp. plantarum* D747-es törzse is (Nébih, 2023).

2.2.2.6. Dísznövénytermesztésben jelentős *Phytophthora* fajok

A talajon történő termesztésnél szinte mindig találkozhatunk talajból fertőző növénypatogén kórokozókkal, így *Phytophthora* fajokkal is. Ezek a fajok – a *Fusarium* fajokhoz hasonlóan – gyökérnyaki rothadást, levelek foltosodását és az egész növény pusztulását okozhatják, melyek egyaránt fertőzik a fás- és lágyszárú növényeket is. Spanyol faiskolákban jelentős veszteségeket okoznak a *P. citrophthora*, *P. nicotianae*, *P. hedraiandra* és a *P. niederhauserii* fajok (Mora-Sala és mtsai., 2022). Olaszországban a tölgyfa (*Quercus* spp.) állományokban általában a *P. cinnamomi*, *P. cambivora* és *P. cryptogea* fajokkal találkozhatunk, míg a *P. palmivora* inkább az olajfákat (*Olea europea*) fertőzi (Antonelli és mtsai., 2022). Összességében elmondható, hogy Európában a legjelentősebb fajok közé tartoznak a *P. plurivora*, *P. cinnamomi*, *P. cactorum*, *P. nicotianae*, *P. ramorum* és *P. citrophthora*, de folyamatosan növekszik a leírt fajok száma (Mora-Sala és mtsai., 2022).

Catharanthus roseus növényekről is leírtak már több növénypatogén *Phytophthora* fajt, többek között a *P. nicotianae*-t (Baysal-Gurel és mtsai., 2022.) és a *P. parasitica*-t (Hossain és mtsai, 2009), melyek szintén levélhervadást és gyökérnyaki rothadást okoztak a vizsgált növényeken.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. A vizsgálat helye és ideje

A talajból fertőző kórokozókra utaló tünetes *Catharanthus roseus* növények egy részét egy nagykanizsai dísnövénytermesztő adta át azonosításra (3. ábra), a másik részét pedig a Budai Campus Arborétumában találtuk. A kórokozók azonosításához a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Növényvédelmi Intézet, Növénykórtani Tanszékének laboratóriumában végeztük el a vizsgálatokat 2022 szeptemberétől.

3.2. A vizsgálat anyaga

3.2.1. Növények

A vizsgálatához a nagykanizsai és az Arborétumból származó mintákat egyaránt felhasználtuk. A patogenitási tesztek elvégzéséhez az egészséges növényanyagot szintén egy hazai dísnövénytermesztőtől szereztük be. Ezek a rózsás meténg növények 15-20 cm magasak és tünetmentesek voltak, néhány már virágot is hozott.



3. ábra: Tünetes *Catharanthus roseus* növények a dísnövénytermesztőnél

(Szendrei, 2023)

3.2.2. Vizsgálatba vont izolátumok

A begyűjtött mintákból 10 db izolátumot hoztunk létre, ezek paramétereit az 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat: A vizsgálatba vont izolátumok paramétereit

(Forrás: saját munka)

Izolátum kódja	Növény rész	Gyűjtés helye	Gyűjtés ideje
D01	gyökérszaki rész	Budai Arborétum	2022. ősz
D02	gyökérszaki rész	Budai Arborétum	2022. ősz
D03	szár	Budai Arborétum	2022. ősz
D04	gyökérszaki rész	Budai Arborétum	2022. ősz
D05	szár	Nagykanizsa	2023. tavasz
D06	szár	Nagykanizsa	2023. tavasz
D07	gyökérszaki rész	Nagykanizsa	2023. tavasz
D08	gyökérszaki rész	Nagykanizsa	2023. tavasz
D09	szár	Nagykanizsa	2023. tavasz
D10	szár	Nagykanizsa	2023. tavasz

3.2.3. Táptalajok, primerek

A kórokozók izolálásához burgonya dextróz agar táptalajt (PDA) használtunk. A vizsgálathoz szükséges további munkálatokhoz (tisztá tenyészetek létrehozásához, ezek fenntartásához) szintén ezt a táptalajt alkalmaztuk.

Univerzális indítószekvenciákat alkalmaztunk a molekuláris azonosításhoz, melyek a kórokozók 18S rRNS gén egy részét, az ITS1 régiót, az 5,8S rRNS gént, az ITS2 régiót és a 28S rRNS kódoló gén egy részét amplifikálják. ITS1 primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG -3', ITS4 primer: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' (White és mtsai., 1990). Használtunk továbbá EF1-728F: 5' CAT CGA GAA GTT CGA GAA GG-3' és EF1-986R: 5' TAC TTG AAG GAA CCC TTA CC-3' primerpárokat (Carbone és Kohn, 1999) az EF1 α gén egy részének amplifikálásához. A PCR terméket a High Pure PCR Product Purification Kit-tel (Roche) tisztítottuk szekvencia meghatározás előtt.

3.2.4. Felhasznált eszközök

A kísérlethez az egyetem Növénykórtani Tanszékének laboratóriumában megtalálható általános eszközöket használtuk fel (fém bonc- és lándzsatű, fém gyökérfúró, Eppendorf csövek stb.) A leoltáshoz és a tenyészetek fenntartásához 85 mm-es műanyag Petri-csészéket alkalmaztunk.

A fertőzött növényi részokról való leoltást, illetve az ezekből készült tenyészetek friss táptalajra való áttöltését Thermo Scientific MSC 1.2 lamináris fülke alatt végeztük el. Ezután a tenyészeteket Sanyo MLR-351 fitotronban inkubáltuk. A kórokozók szaporítóképleteit és a kórokozók által okozott tüneteket Leica MZ6 sztereomikroszkóp és Nikon Eclipse 50i citoplaszt mikroszkóp alatt vizsgáltuk, majd QImaging MicroPublisher 5.0 RTV kamerával mikroszkópos felvételeket készítettünk.

A polimeráz láncreakciókat Applied Biosystems 9700 típusú PCR készülékben végeztük el. Emellett alkalmaztunk továbbá Thermolyne Maxi Mix Plus vortex készüléket, Minispin Eppendorf asztali centrifugát és UniEquip, Univapo 100 ECH vákuum koncentrátort.

3.3. A vizsgálat módszere

3.3.1. Növényi részek gyűjtése és tárolása

A fertőzött nagykanizsai növényi anyagot 2023 tavaszán kaptuk, illetve az egyetem Arborétumából származó, tüneteket mutató növényeket 2022 októberében gyűjtöttük be, majd papírzacskóba helyeztük. Ezeket a mintákat a Növénykórtani Tanszék laboratóriumába vittük.

3.3.2. Tünetek jellemzése

A fertőzött növényi részeken szabad szemmel is jól láthatók voltak a hervadásos és rothadásos tünetek, de sztereomikroszkóp alatt is megvizsgáltuk őket és feljegyeztük a tüneteket.

3.3.3. A kórokozó izolálása táptalajon, tiszta tenyészet és az antagonista szervezet tenyészetének előállítása

A kórokozókat PDA táptalajon izoláltuk a tüneteket mutató rózsás meténg szárából. A növényi anyagokat 5 percen át 10%-os hypo oldatban fertőtlenítettük, majd steril vízzel lemostuk és behelyeztük a lamináris fülkébe megszáritani. Néhány perc múlva steril szikével

darabokat metszettünk ki az egészséges és a beteg részek határáról, majd ezeket a szövetdarabokat steril eszközökkel a Petri-csészékben lévő PDA táptalajra helyeztük (3 darab/Petri-csésze). Amikor az összes szövetdarabot áthelyeztük a táptalajokra, parafilmmel lezártuk a Petri-csészéket és feliratoztuk őket, ezt követően pedig betettük őket a fitotronba és 24 °C-on sötétben inkubáltuk azokat.

Néhány nap múlva a növekedésnek indult tenyészetekből gyökérfúró segítségével micéliumkorongokat metszettünk ki és áthelyeztük őket új, steril táptalajra, így létrehozva a tiszta tenyészeteket. Ezeket néhány hetente átoltottuk a már ismertetett módszerrel a tenyészetek a további fenntartása érdekében. A vizsgálat későbbi részeihez létrehoztunk egy antagonista szervezetet tartalmazó – a mi esetünkben *Trichoderma asperellum* (korábbi nevén *T. harzianum*) – tenyészeteket is. Ezekhez spórákat tartalmazó készítményt használtunk a következőképpen: steril lándzsátűket belemártottuk a spóraporba, majd ezt 3 ponton hozzáérintettük a Petri-csészékben lévő táptalajhoz. A végén a tenyészeteket parafilmmel lezártuk és szobahőmérsékleten inkubáltuk pár napig. Az antagonista szervezet micéliuma igen gyorsan (néhány nap alatt) benőtte a rendelkezésére álló táptalajt.

3.3.4. Morfológiai vizsgálatok: a szaporító képletek és tenyészbélyegek jellemzése

A tüneteket okozó kórokozót először a fertőzött növényi részekben jelen lévő szaporítóképletek alapján jellemeztük és azonosítottuk. A morfológiai bélyegek közül vizsgáltuk – *Fusarium* fajok esetében a konídiumok, *Phytophthora* fajok esetében a sporangiumok – keletkezésének a helyét és módját, a színét, méretét és alakját. Ehhez a vizsgálathoz tárgylemezre cseppentettük 1-1 csepp steril vizet, majd steril lándzsátű segítségével kaparékot készítettük és ezeket vizsgáltuk meg citoplaszt mikroszkóp alatt. Ezen felül meghatároztuk még 50-50 db makro- és mikrokonídium és sporangium hosszúságát és szélességét is, illetve vizsgáltuk még a tiszta tenyészetek morfológiai karaktereit is: a tenyészetek alakját, színét, mintázottságát, a szaporító- és egyéb képletek képződését.

3.3.5. Patogenitási teszt

A patogenitási teszteket a kórokozók megbetegítőképességének igazolásához végeztük el egészséges, cserépből lévő *Catharanthus roseus* töveken. Ehhez az egészséges növények gyökérnyakhoz közeli részeit fertőtlenítettük és apró sebzéseket ejtettünk, majd steril lándzsátűvel micélium darabokat emeltünk át ezekbe a metszésekbe és inokuláltuk a töveket.

Először feljegyeztük a sikeres fertőzésre utaló tüneteket (például a levelek lankadását, sárgulását) a növényekről, majd ezután a növényeken megjelenő szaporítóképletekről lamináris fülke alatt visszaizoláltuk táptalajra a kórokozókat és néhány nap inkubáció után ellenőriztük a tenyészeteket.

3.3.6. Molekuláris vizsgálatok

Nukleinsav-kivonás

A kórokozók 7-14 napos tiszta tenyészeiből nyertük ki a DNS-t a molekuláris vizsgálatokhoz. Ezekből a tenyészetekből lamináris fülkében gyökérfúró segítségével korongokat emeltünk ki, letisztítottuk róluk a felesleges táptalajt, majd dörzsmozsárban eldörzsöltük kvarchomok hozzáadásával. Ezt követően 700 µl CTAB puffert (2% CTAB; 1,4 M NaCl; 20 mM EDTA; 100 mM TRIS-HCL pH: 8; 0,2% 2- ME) adtunk hozzá, majd tovább homogenizáltuk a mintákat. Az elegyet kitöltöttük Eppendorf-csövekbe, majd 30 percen át, 65 °C-on asztali termosztátban inkubáltuk azokat. A szennyeződések és egyéb anyagok (pl. fehérjék) eltávolításához az Eppendorf-csövekbe szerves oldószert (700 µl izoamilalkoholos-kloroformot) pipettáztunk, amit kézi rázást követően vortex segítségével kevertünk össze, majd 10 percig centrifugáltuk szobahőmérsékleten, asztali centrifuga segítségével. Az Eppendorf-csövek felső részén lévő, puffert tartalmazó vizes fázist tiszta Eppendorf-csövekbe átpipettáztuk és hozzáadtunk térfogatarányosan izoamilalkoholos-kloroformot. Ezt követően ismét vortexeltük a mintákat, melyeket ezután újabb 10 percig centrifugáltunk. A felső fázist ismét tiszta Eppendorf-csövekbe pipettáztuk át és hozzáadtunk 600 µl izopropanolt, amellyel denaturáltuk a nukleinsavakat. A következő centrifugálás (5 perc) után leöntöttük a felülúszót és az üledéket 5 perces centrifugálás során 70%-os etanollal mostuk. Ezután az etanolt leöntöttük, lecsepegtettük és az üledéket 10 percig vákuumszáritóban szárítottuk meg és ezt követően 20 µl RNase-t tartalmazó TE-oldatban oldottuk vissza. A kivont örökítőanyagokat mélyhűtőben -20 °C-on tároltuk.

PCR (polimeráz-lánreakció) vizsgálat

A polimeráz-lánreakció során az ITS régió egy szakaszát amplifikáltuk, melyhez az ITS1 és ITS4 primerpárokat, illetve az EF1 α gén egy szakaszát amplifikáltuk az EF1-728F és EF1-986R primerpár alkalmazásával. A vizsgálatához a következőket mértük össze 40 µl végtérfogatra reakciónként: 20µl Thermo Scientific Master Mix (2X) (MgCl₂ 20mM, dNTPS

5mM, DreamTaq puffer, DreamTaq polimeráz enzim 5 u/μl), 2-2 μl primer (20 pmol/μl), 4 μl DNS és 12 μl steril víz.

A PCR során egy ciklus három lépésből áll, melyek a következők:

- 94 °C-on történik a denaturáció, 30 másodpercig, ekkor a komplementer szálak elválasztódnak egymástól,
- 55 °C-on (ITS)/ 58 °C-on (EF1α) az anelláció, szintén 30 másodpercig, ennél a lépésnél az indítószekvenciák, vagyis a primerek kötődnek,
- az elongáció pedig 72 °C-on megy végbe, 120 másodpercig, ekkor történik a lánchosszabbítás.

35 ciklus követte az elsődleges denaturációt, ami 5 percig tartott és a teljes reakció az elongációval fejeződött be, amely 10 percig tartott. A PCR eredményét egy Eco Safe nevű festéket (Eco Safe Nucleic Acid Staining Solution, Biocenter) tartalmazó 1%-os agarózgélben gélelektroforézissel ellenőriztük.

A nukleotid szekvencia meghatározása

A PCR termékeket a PCR High Purification Kit-tel (Roche, Németország) tisztítottuk ki a gyártó utasításai szerint. A tisztítás végén a koncentrációt leellenőriztük spektrofotométer segítségével. A célszekvenciákat Gödöllőre a Biomi Kft.-hez küldtük közvetlen szekvencia meghatározásra. CLC Sequence Viewer 7 (CLC Bio) programot használtunk a szekvenciák összehasonlításához és szerkesztéséhez. A kórokozó azonosításához az NCBI (National Center for Biotechnology Information) adatbázist, illetve annak BLAST programját használtuk fel.

3.3.7. Növénypatogén és antagonistá szervezet kölcsönhatása

Ahhoz, hogy bebizonyítsuk az antagonistá szervezet – a mi esetünkben a *Trichoderma asperellum* (korábbi nevén *T. harzianum*) – hatásosságát a talajból fertőző kórokozók ellen, Petri-csészében kivitelezett kísérletet állítottunk be. Ehhez friss PDA táptalajt öntöttünk ki Petri-csészékbe lamináris fülke alatt, majd miután megdermedtek, steril lándzsával és steril gyökérfúróval micélium korongokat metszettünk ki a kórokozók 7-10 napos tenyészetéből. Ezeket a korongokat a Petri-csészék egyik oldalára, a falától 1,5 cm-re leoltottuk. Ezt követően az előre elkészített antagonistá szervezet tenyészeiből is micéliumkorongokat vágunk ki és helyeztük el a Petri-csészék másik oldalára, szintén a falától 1,5 cm távolságra, összesen 40 ismétléssel. Emellett létrehoztunk még 10 ismétlést a kontroll – csak a növénypatogént

tartalmazó – tenyészetekből is, ahol a Petri-csészéknek csak az egyik oldalán lett leoltva a kórokozó. A tenyészeteket parafilmmel lezártuk és felcímkéztük őket, majd szobahőmérsékleten inkubáltuk azokat.

A sikeres kísérlet érdekében 48 óra elteltével lemértük a tenyészetekben a növénypatogének micéliumkorongjaiból kiinduló növekedési sugarat, illetve a kontroll tenyészetekből kiindult növekedési sugarat. A méréseket megismételtük még két alkalommal, melyek között szintén 48 óra telt el, illetve az utolsó mérés során már csak a kontroll tenyészetek sugarát mértük le. A statisztikai elemzéseket IBM SPSS elemző szoftverrel végezzük.

4. EREDMÉNYEK

A begyűjtött minták esetében 5 izolátum patogenitását igazoltuk, vizsgálataink során ezeket az izolátumokat használtuk fel. Ezek közül 4-et *Fusarium* fajként, 1-et *Phytophthora cactorum*-ként azonosítottunk.

4.1. A *Fusarium* spp. által okozott tünetek

Kezdetben a levelek a levél fonáki oldala felé kanalasodtak, idővel hervadni, sárgulni, kezdtek, végül teljesen elszáradtak. A természetből származó egyedek hajtása és gyökere is gyengén fejlett volt. Néhány növényen már szabad szemmel is láthatóak voltak a gomba képletei. Az ültetőközezből kivéve szabad szemmel is jól láthatóvá vált a gyökérnyaki résznél megjelenő befűződés is. A szárát kettévágva megfigyelhetővé vált a szállítószövetek elhalása (tracheomikózis) (4. ábra).



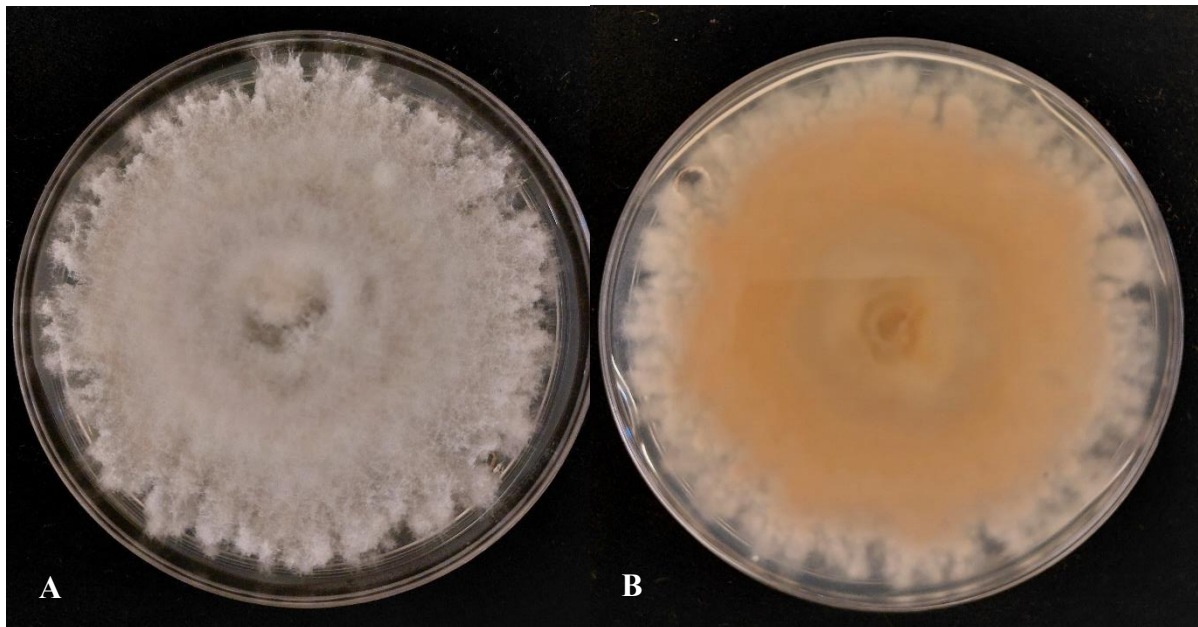
4. ábra: *Fusarium* fajok okozta tünetek *Catharanthus roseus* növényeken: a levelek kanalasodása (A), gyökérnyaki befűződés (B), tracheomikózis (C)

(Fotók: Borsos és Szendrei, 2023)

4.2. A *Fusarium* spp. morfológiai bélyegei

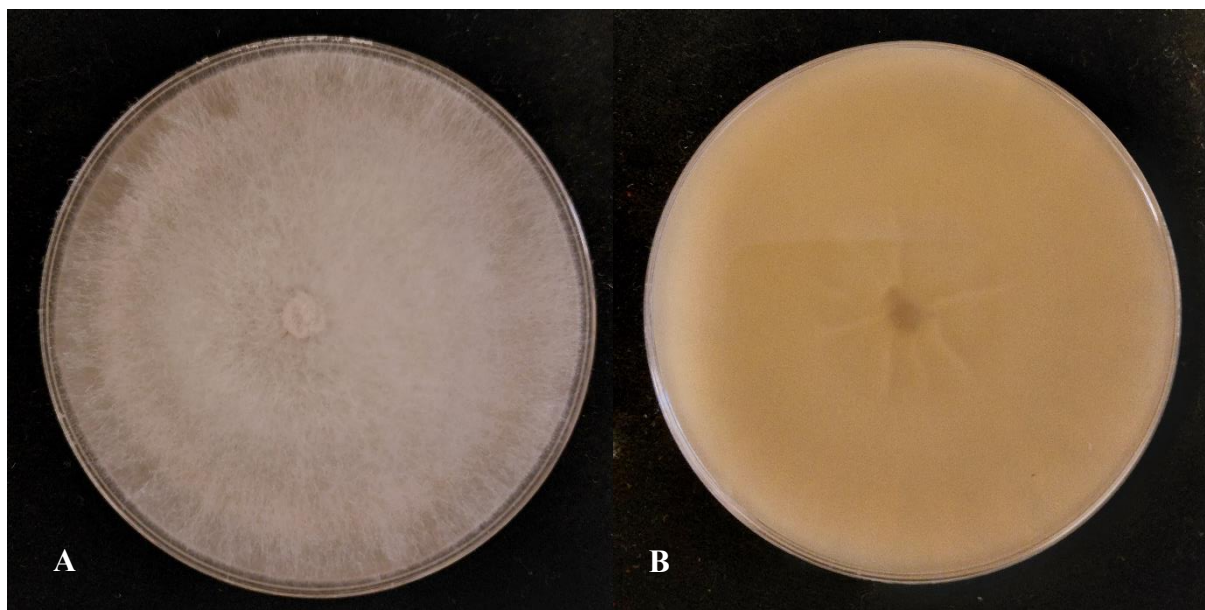
4.2.1. A tenyészetek morfológiai jellemzői

A fiatal tenyészetek igen gyors növekedésűek voltak, 7-10 nap alatt teljesen benőtték a táptalaj felszínét. Eleinte krémes-fehéres színű légmicélium képződött a tenyészetekben. A tenyészetek növekvő széle egyes esetekben csipkézett/szeldelt (D05, D06, D07, D08, D09, D10), más esetekben ép volt (D02, D03, D04). A 3-4 hetes tenyészetek tömörebbé váltak, fonáki oldaluk a krémes színről világos narancssárga színűvé változott, színi oldaluk világosabb maradt, illetve megjelent a fuzárium fajokra jellemző, néhány esetben enyhébb zónázottság is (D05, D06, D07, D08, D09, D10), amely egyes izolátumoknál jobban észrevehető volt (D09, D10). A színi oldalukon lévő légmicélium végig fehéres-krémes színű maradt (**5. és 6. ábra**).



5. ábra: A *Fusarium* sp. D09-es izolátum tenyészete PDA táptalajon. Színi (A) és fonáki (B) oldal

(Fotók: Borsos, 2023)



6. ábra: A *Fusarium* sp. D04-es izolátum tenyésztete PDA táptalajon. Színi (A) és fonáki (B) oldal
(Fotók: Borsos, 2023)

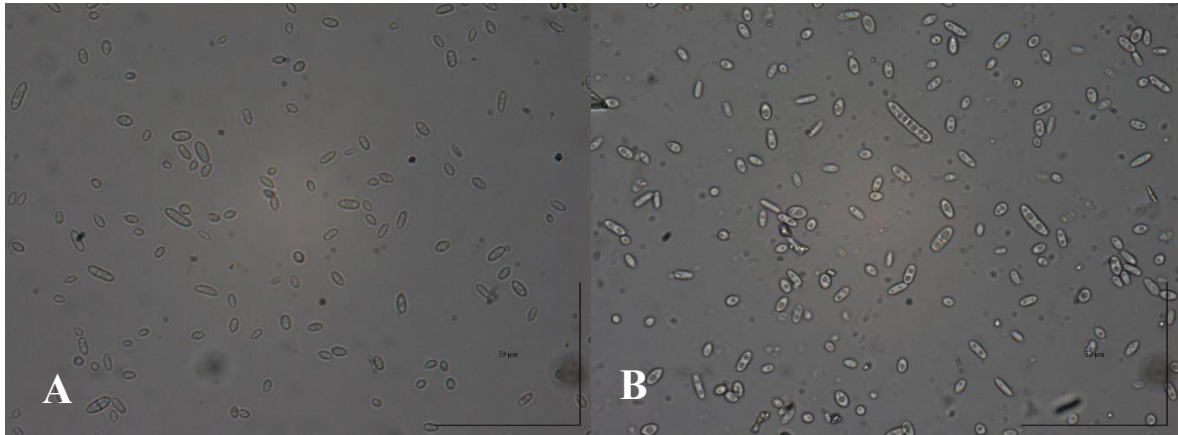
4.2.2. A szaporítóképletek morfológiai jellemzői

A különböző *Fusarium* spp. izolátumok eltérő szaporítóképleteket képeztek. Néhány tenyésztetben csak mikrokonídiumok (D09), vagy csak makrokonídiumok (D05), vagy mikro- és makrokonídiumok egyaránt is képződtek (D04). A mikrokonídiumok hialinok, egysejtűek voltak, alakjuk enyhén megnyúlt, ovális volt (D09, D04) (7. ábra). A mikrokonídiumok méreteit az 3. táblázat tartalmazza.

3. Táblázat: A mikrokonídiumok átlagos méretei

(Forrás: saját munka)

Izolátum kódja	Mikrokonídiumok mérete					
	Szélesség (μm)			Hosszúság (μm)		
	Minimum	Maximum	Átlag	Minimum	Maximum	Átlag
D09	1,1	4,14	2,11	2,92	9,94	5,26
D04	2,44	4,76	3,90	5,02	10,5	6,94



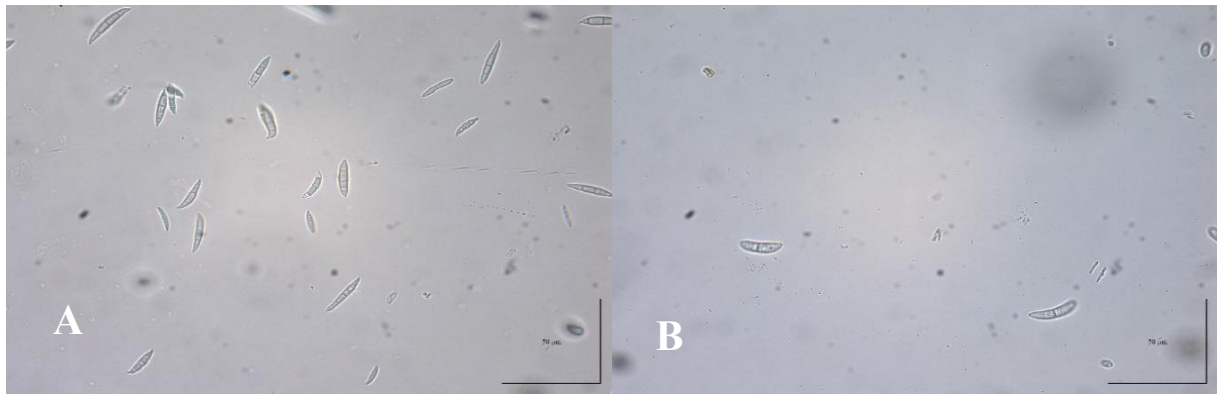
7. ábra: A mikrokonídiumok D09-es (A) és D04-es (B) izolátumokról
(Fotók: Borsos, 2023)

A makrokonídiumok szintén hialinok, alakjuk sarló alakú és átlagosan 3 db szeptummal rendelkeztek (D04) (**8. ábra**) vagy enyhén lekerekített végű, kifli alakúak voltak (D05) (**8. ábra**), ezek méreteit a 4. táblázat foglalja össze. Megfigyeltünk klamidospórák képződését is a tenyészetekben, melyek elhelyezkedése terminális (D04) volt.

4. Táblázat: A makrokonídiumok átlagos méretei

(Forrás: saját munka)

Izolátum kódja	Makrokonídiumok mérete					
	Szélesség (µm)			Hosszúság (µm)		
	Minimum	Maximum	Átlag	Minimum	Maximum	Átlag
D04	2,27	4,39	3,22	13,3	36,5	24,50
D05	2,99	6,56	4,28	11,2	24,5	17,85



8. ábra: A makrokonídiumok D04-es (A) és D05-ös (B) izolátumokról
(Fotók: Borsos, 2023)

4.3. A *Phytophthora cactorum* által okozott tünetek

Szintén talajból fertőző kórokozóról van szó, ezért az általa okozott tünetek megegyeztek a *Fusarium* spp. által okozott tünetekkel: a levelek lankadtak, sárgultak, nekrotizálódtak a gyökérnyaki rész barnult (**9. ábra**). A két növénypatogént csak mikroszkóp segítségével tudtuk elkülöníteni a morfológiai képletek, valamint a tenyészbélyegek alapján.

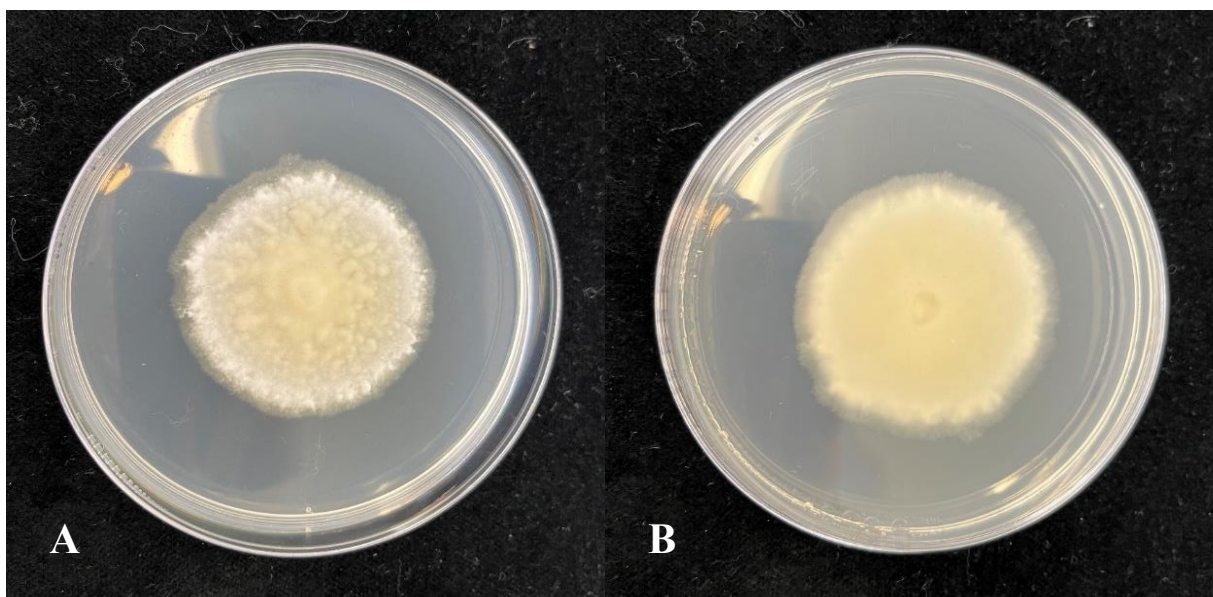


9. ábra: *Phytophthora cactorum* okozta tünetek *Catharanthus roseus* növényeken
(Fotó: Szendrei, 2023)

4.4. A *Phytophthora cactorum* morfológiai bélyegei

4.4.1. A tenyészetek morfológiai jellemzői

A kórokozót szintén sikeresen izoláltuk PDA táptalajon (D01). A leoltást követően a telepek lassú növekedést mutattak. A tenyészetek színe eleinte fehéres, majd később világos krémes-fehéres színűvé változott, légmicélium nem képződött. Az idősebb (4-6 hetes) telepek felszíne mattá, a micéliumtömeg igen sűrűvé vált. A tenyészetek növekvő széle kifehéredő, belsejük sárgásabb-krémesebb színű volt (**10. ábra**).



10. ábra: *Phytophthora cactorum* (D01) tenyészete PDA táptalajon. Színi (A) és fonáki (B) oldal

(Fotók: Borsos, 2023)

4.4.2. A szaporítóképletek morfológiai jellemzői

A *Phytophthora cactorum* kórokozó sporangiumai tömegesen képződtek a tenyészetben, vékony fallal határoltak, hialinok és citrom alakúak voltak, illetve a papilla is jól kivehető volt (**11. ábra**). Méretük átlagosan a 22,69 x 30,57 μm között mozgott. A sporangiumokban jól láthatóak voltak a bennük képződő zoospórák is, illetve megfigyeltünk néhány klamidospórárt is, melyek elhelyezkedése terminális volt (**11. ábra**).



11. ábra: *Phytophthora cactorum* sporangiumai

(Fotó: Borsos, 2023)

4.5. Patogenitási teszt

A patogenitási teszt elvégzéséhez egészséges, becserepezett *Catharanthus roseus* növényeket használtunk. A tövek alsóbb részét fertőtlenítettük és steril lándzsatűvel apró karcolásokat ejtettünk az epidermiszen, majd a kórokozók tiszta tenyészetéből vett micéliummal átszótt táptalajkoronggal mesterségesen fertőztük őket. Ezután a növényeket steril, átlátszó, műanyag dobozokban tartottuk, magas relatív páratartalom mellett. A fertőzést követő 7. napon a növények már lankadtak, a leveleik a fonáki oldal felé kanalasodtak, virágbimbóik is hervadtak (**12. ábra**). Ekkor már az inokulálási pontoknál is jól látszódott a barna szöveti elhalás. A növények szárát kettévágva megfigyelhető volt a szállítónyalábok elhalása.



12. ábra: A *Fusarium* fajjal végzett patogenitási teszt eredménye *Catharanthus roseus* töveken

(Fotók: Borsos és Szendrei, 2023)

4.6. Molekuláris vizsgálatok

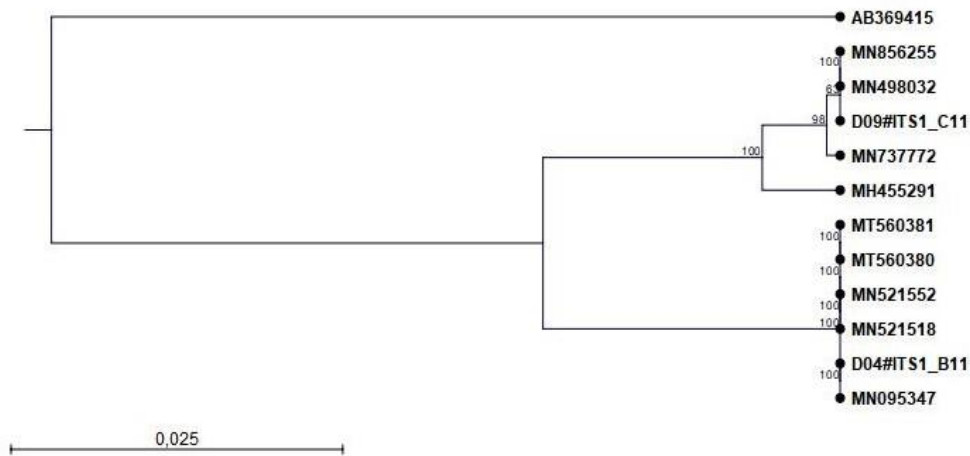
4.6.1. Azonosítás az ITS régió alapján

A molekuláris azonosításhoz olyan tenyészeteket választottunk melyeket előtte a morfológiai bélyegek alapján (legalább nemzetség szinten) meghatároztunk, azonban különböztek egymástól, így az azonosítás során a D01, D04, D09 izolátumokkal dolgoztunk. Az ITS régió alapján történő azonosítás során az ITS1 és ITS4 univerzális primerek kb. 600 bázispár hosszúságú szakaszt sokszoroztak meg a polimeráz láncreakcióban.

4.6.1.1. *Fusarium* fajok azonosítása

A nukleotid sorrend összehasonlítás eredményeként a D04-es izolátum szekvenciája 99,80%-os hasonlóságot mutatott az NCBI adatbázisban szereplő *Fusarium oxysporum* izolátumok szekvenciáival. A D09-es izolátum szekvenciája 100%-os hasonlóságot mutatott az NCBI adatbázisban szereplő *Fusarium* fc. *incarnatum-equiseti* és *F. chlamydosporum* izolátumok szekvenciáival. A törzsfán a *Fusarium solani* (AB369415) izolátum külön ágon

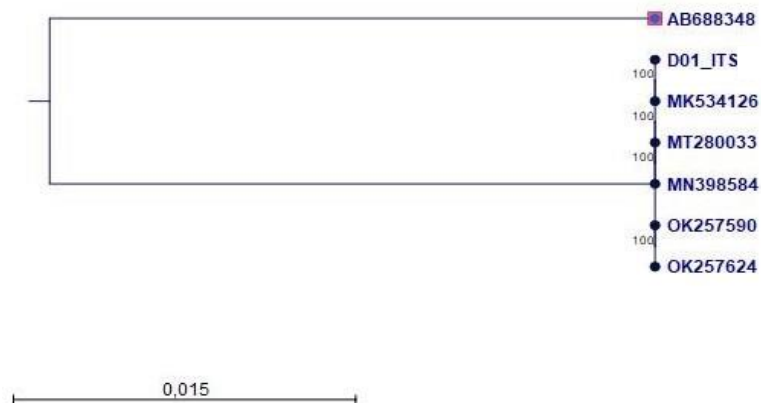
helyezkedik el a *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* fc. *incarnatum-equiseti* izolátumoktól (13. ábra).



13. ábra: A *Fusarium oxysporum* és *F. fc. incarnatum-equiseti* izolátumok dendrogramja az ITS régió szekvenciárészlete alapján

4.6.1.2. *Phytophthora* faj azonosítása

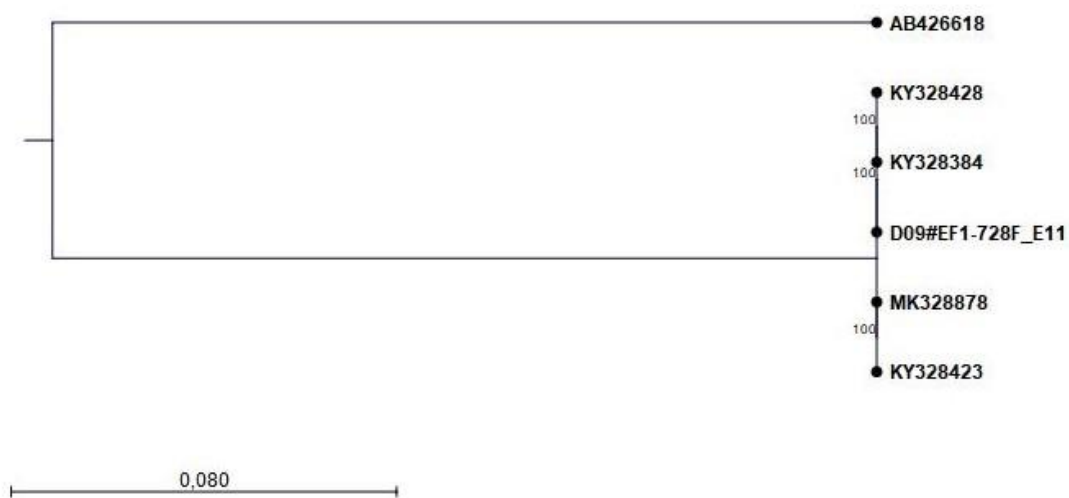
A nukleotid sorrend összehasonlítás eredményeként a D01-es izolátum szekvenciája 100%-os hasonlóságot mutatott az NCBI adatbázisban szereplő *Phytophthora cactorum* izolátumok szekvenciáival. A törzsfán a *Phytophthora infestans* izolátum (AB688348) külön ágon helyezkedik el a *Phytophthora cactorum* izolátumoktól (14. ábra).



14. ábra: A *Phytophthora cactorum* izolátumok dendrogramja az ITS régió szekvenciárészlete alapján

4.6.2. Azonosítás EF1 α gén alapján

Mivel az ITS genomi régió vizsgálata során a D09-es izolátum esetében nem egyértelmű eredményt kaptunk, ezért elvégeztük az EF1 α gén alapján történő azonosítást is, mely során az EF1-728F és EF1-986R primerpár kb. 300 bázispár hosszúságú szakaszt sokszoroztak meg a polimeráz láncreakcióban. A D09-es izolátum szekvenciája 100%-os hasonlóságot mutatott az NCBI adatbázisban szereplő *Fusarium fc. incarnatum-equiseti* izolátumok szekvenciáival. A törzsfán a *Fusarium solani* (AB426618) izolátum külön ágon helyezkedik el a *Fusarium fc. incarnatum-equiseti* izolátumoktól (**15. ábra**).



15. ábra: A *F. fc. incarnatum-equiseti* izolátumok dendrogramja az EF1 α gén szekvenciárészlete alapján

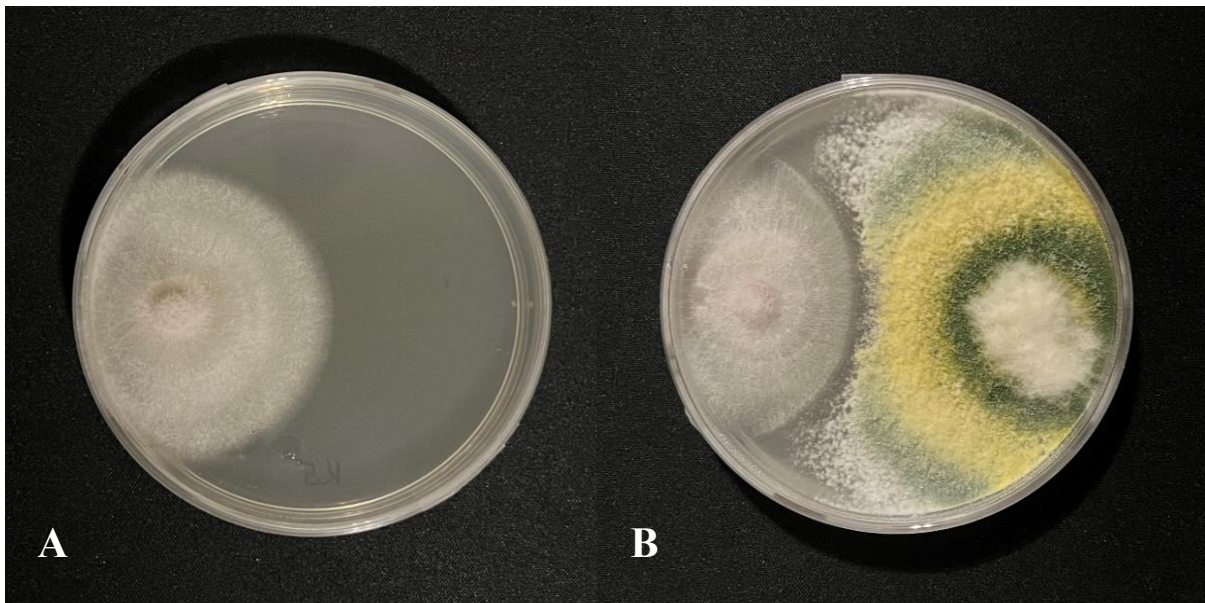
Magyarázat a **13.**, **14.** és **15. ábrához:** Az izolátumokat a dendrogramon az NCBI adatbázis hivatkozási számaival és a kórokozó nevekkkel tüntettük fel. A törzsfán a vízszintes vonalak, ill. azok hossza az izolátumok egymástól való genetikai távolságát mutatják a vizsgált szekvenciák nukleotid sorrendjének eltérései alapján. A függőleges vonalak az izolátumok egyezőségét jelzik az elágazásokig. A törzsfá alatti skála mértéke 1 bázis eltérést jelöl 100 bázisonként.

4.7. Antagonista szervezet hatékonyságának vizsgálata in vitro

A patogenitási tesztek sikeres elvégzése után egy antagonista szervezettel állítottunk be kísérletet. A vizsgálathoz a D04-es izolátumot és a *Trichoderma asperellum*-ot választottuk.

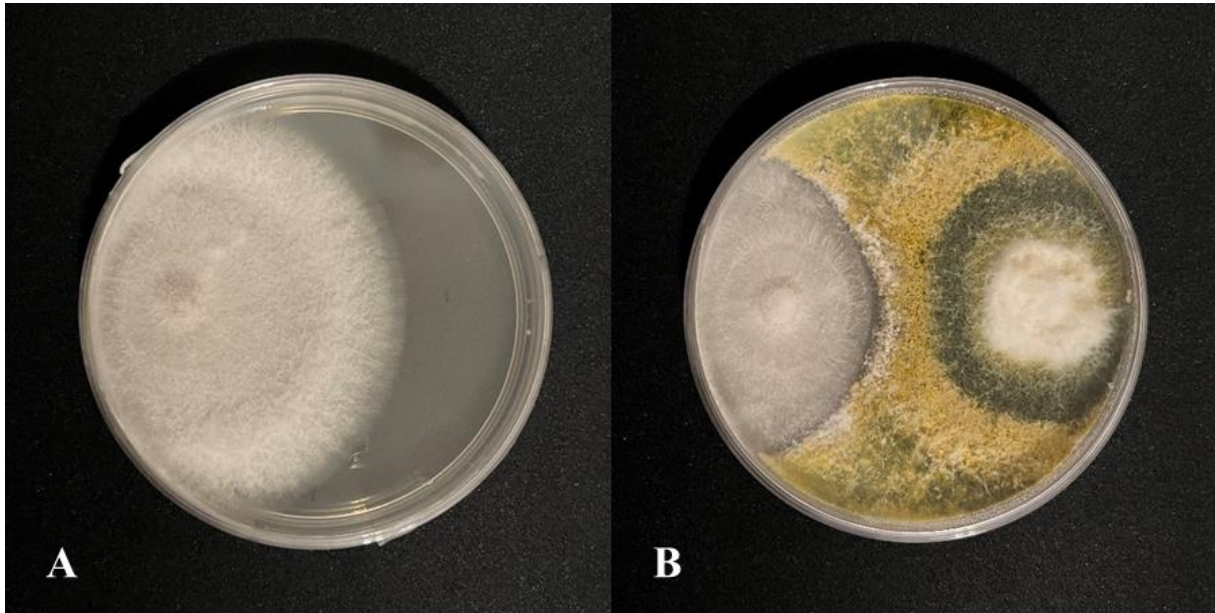
Az első mérés – a leoltást követő 48 óra elteltével – eredményei a következők lettek: a kontroll edényekben átlagosan 1,55 cm-t, a kísérleti edényekben átlagosan 1,51 cm-t nőttek a leoltás pontjától a micéliumok. Itt még nem figyelhető meg szignifikáns eltérés.

A második mérés – újabb 48 óra elteltével – adatai: a kontroll csészékben átlagosan 3,13 cm, a kísérleti csészékben átlagosan 1,91 cm sugárirányú növekedés volt megfigyelhető. Ennél a mérésnél már jól látszódott, hogy a kontroll edényekben (amelyekben csak *Fusarium* sp. volt leoltva) sokkal nagyobb ütemben tudott növekedni a kórokozó micéliumszövedéke (**16. ábra**).



16. ábra: A kontroll tenyészet (A) és az antagonista szervezettel kezelt tenyészetek (B) a 2. mérés időpontjában
(Fotók: Borsos, 2023)

A harmadik és egyben utolsó mérés – szintén 48 óra elteltével – eredményei a következők: ebben az időpontban már csak a kontroll csészéket mértük, ugyanis addigra már teljesen beszőtte az antagonista szervezet a rendelkezésére álló teret a kísérlethez beállított Petri-csészékben (**17. ábra**). A kontroll csészékben átlagosan 4,64 cm-t nőtt a növénypatogén kórokozó micéliuma sugárirányban.



17. ábra: A kontroll tenyészet (A) és az antagonista szervezettel kezelt tenyészetek (B) a 3. mérés időpontjában
(Fotók: Borsos, 2023)

5. KÖVETKEZTETÉSEK

2022. őszén a Budai Arborétum területén, illetve 2023. tavaszán egy nagykanizsai dísznövénytermesztő növényállományában is megfigyeltek *Catharanthus roseus* növényeken hasonló, hervadásos tüneteket.

Ezek a növényeken eleinte hervadásos tüneteket, a levelek fonáki irányba történő kanalasodását lehetett észlelni, amely valamilyen víz- és tápanyagfelvételi problémára engedett következtetni. A talajból fertőző kórokozók – a *Fusarium* és a *Phytophthora* fajok is – a növényi szövetben tracheomikózist, vagyis a szállítószövetek részleges, végül teljes elhalását okozzák, általában a gyökérnyaki résznél, ezért okoznak eleinte ilyen hervadásos tüneteket. Ilyenkor egy laikus általában még több vizet ad a növényeknek, amitől csak rosszabbodik a helyzet, hiszen a növénypatogén gombák nedves környezetben érzik a legjobban magukat, illetve a már valamilyen mértékben elhalt gyökérzet sem képes felvenni a vizet és a maradék gyökér is elpusztul. A kezdeti tünetek megjelenése után már nem lehet hatékonyan védekezni ezek ellen a talajból fertőző kórokozók ellen, a fertőzött növényegyedek teljesen elpusztulnak (Lecomte és mtsai., 2016; Al-Ghazali és mtsai., 2022; Baysal-Gurel és mtsai., 2022).

A *Fusarium* nemzetség fajait már több szakirodalomban is leírták *Catharanthus roseus* egyedekről, leggyakrabban a *Fusarium oxysporum* fertőzte a növényeket (Kumar és mtsai., 2013; Tu és mtsai., 2021; Al-Ghazali és mtsai., 2022), azonban a hazai szakirodalomban kutatva *Catharanthus roseus* gazdanövényről nem találtuk meg *Fusarium* fajok leírását. Az Arborétumból, illetve a termesztőtől származó növényekből izolált fajok morfológiai bélyegei kissé eltértek. Egyes tenyészetek széle szeldelt volt, és zónázottságot is megfigyeltünk bennük (D05, D06, D07, D08, D09, D10), más tenyészetek növekvő széle pedig ép volt, zónázottságot nem tapasztaltunk (D02, D03, D04). A makro- és mikrokonídiumok méreteit is vizsgáltuk, melyek megegyeztek a *Fusarium oxysporum*-ról (D02, D03, D04), illetve a *F. incarnatum-equiseti* fajkomplexről (D05, D06, D07, D08, D09, D10) a szakirodalomban leírtakkal (Hafizi és mtsai., 2013; Patra és Biswas, 2017; Hegde és mtsai., 2018; Hami és mtsai., 2021). A kórokozók pontos azonosítását molekuláris vizsgálatokkal is alátámasztottuk a D04-es és D09-es izolátum esetében az ITS régió vizsgálata alapján. A D09-es izolátum esetében az EF1 α gén alapján történő azonosítást is elvégeztünk. Ezek alapján a következő eredményeket kaptuk: D04 – *Fusarium oxysporum*, illetve D09 – *Fusarium* fc. *incarnatum-equiseti*. A *F. incarnatum-equiseti* fajkomplexus tagjai közt vannak szaprofiták és kórokozók is, azonban nem csak növényi, hanem állati, és humán patogének is ismertek tagjai között. A fajok pontos taxonómiája a

fajkomplexen belül még nem tisztázott. A fajkomplex tagjait leírták már számos dísznövényről, mint *Hosta*, *Hibiscus*, *Ligustrum* fajokról, de zöldségeket (pl. *Solanum lycopersicum*) és szántóföldi növényeket (pl. *Zea mays*) egyaránt fertőzhetnek (Wang és mtsai., 2019).

A másik izolált kórokozót a morfológiai bélyegek és az ITS régió vizsgálata alapján *Phytophthora cactorum*-ként azonosítottuk, amelyet az egyik legjelentősebb *Phytophthora* fajként tartanak számon Európa-szerte (Mora-Sala és mtsai., 2022). Hazánkban *Catharanthus roseus*-ról ezidáig nem jelezték előfordulását. A tenyészetek színe eleinte fehéres, majd később világos krémes-fehéres színűvé változott (Milenković és mtsai., 2014; Meszka és Michalecka, 2016), légmicélium nem képződött, ellentétben Belisario és mtsai. (1997) megfigyeléseivel. Az idősebb (4-6 hetes) telepek felszíne mattá, a micéliumtömeg igen sűrűvé vált. Ebben az esetben a sporangiumokat vizsgáltuk meg, melyek mérete és leírása szintén megegyezett a szakirodalmakban leírtakkal (Tsedaley, 2014; Ho, 2018). Az általunk izolált fajnál ezek átlagosan a 22,69 µm szélesek és a 30,57 µm hosszúak voltak.

Munkánk során elsőként azonosítottuk a *Phytophthora cactorum*, *Fusarium* fc. *incarnatum-equiseti* és *Fusarium oxysporum* kórokozókat rózsás meténgről hazánkban.

Ezek után egy antagonista szervezettel – a mi esetünkben a *Trichoderma asperellum*-mal – állítottunk be kísérletet *Fusarium oxysporum* fajjal (D04-es izolátum) szemben. Ennek statisztikai értékelése még folyamatban van, azonban az eredmények alapján az antagonista szervezet képes gátolni a növénypatogén kórokozó növekedését *in vitro*. A továbbiakban érdemesnek tartjuk elvégezni a kísérletet *in vivo* körülmények között is, illetve megvizsgálni, hogy az antagonista szervezetnek van-e gátló hatása az általunk izolált másik *Fusarium* faj, illetve *Phytophthora cactorum* ellen is.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A rózsás meténg igen közkedvelt, az *Apocynaceae* család *Catharanthus* nemzetségébe tartozó dísz- és gyógynövény. Virágai a családra jellemző ötös tagoltsággal rendelkeznek, melyek egyre több színben megtalálhatók a piacon. A növényben rengeteg alkaloid és egyéb hatóanyag is megtalálható, ezért a modern gyógyászatban is egyre szélesebb körben alkalmazzák különböző megbetegedések kezelésénél (Aslam és mtsai., 2010; Mishra és Verma, 2017; Paarakh és mtsai., 2019). Ahogy a legtöbb termesztett növényt, így a rózsás meténget is sok kórokozó támadhatja meg, többek között a talajból fertőző kórokozók is (pl. *Fusarium* és *Phytophthora* fajok). Ezek ellen a növénypatogén gombák ellen nagy kihívást jelent a megfelelő védelem kialakítása, azonban a talajból fertőző kórokozók ellen sikeresen alkalmazhatunk biológiai növényvédelmet.

2022. őszén a Budai Arborétum területén figyeltünk meg talajból fertőző kórokozókra utaló tüneteket *Catharanthus roseus* növényeken, illetve 2023. tavaszán egy nagykanizsai dísznövénytermesztő is felkeresett minket hasonló tüneteket mutató rózsás meténg tövekkel. Ezeket a kórokozókat igen nehéz pontosan meghatározni, így munkám során célul tűztük ki ezek pontos azonosítását, illetve hogy az általunk izolált kórokozók elleni védekezéshez alkalmas-e antagonistá szervezet használata. A vizsgálatokat a Növénykórtani Tanszék laboratóriumában végeztük, ahol a kórokozókat PDA táptalajon izoláltuk. Vizsgáltuk a tenyészetek morfológiai bélyegeit, illetve a szaporítóképletek is (*Phytophthora* esetében a sporangiumok, míg a *Fusarium* fajok esetében a mikro- és makrokonídiumok méreteit). Ezután a kórokozók patogenitását is igazoltuk. A molekuláris azonosítás során az ITS régiót és az EF1 α gént vizsgáltuk, melyek alapján a következő kórokozókat határoztuk meg: *Phytophthora cactorum*, *Fusarium oxysporum* és *Fusarium* fc. *incarnatum-equiseti*. Végül egy általunk választott izolátummal (*Fusarium* sp.) végeztük el az antagonistá szervezettel (*Trichoderma asperellum*) beállított kísérletet, ahol megállapítottuk, hogy ez a védekezési módszer tökéletesen működik *in vitro* az adott kórokozóval szemben.

Munkánk során először azonosítottuk a *Phytophthora cactorum*, *Fusarium* fc. *incarnatum-equiseti* és *Fusarium oxysporum* kórokozókat rózsás meténgről hazánkban, melyet molekuláris azonosítással is alátámasztottunk.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom konzulenseimnek, Dr. Tóth Annamáriának és Szendrei Lillának, akik a dolgozat elkészülte alatt mindvégig segítségemre voltak. Köszönöm mind szakmai segítségüket, mind türelmüket, amivel segítették a dolgozat elkészülését.

Ezen kívül szeretnék köszönetet mondani családomnak és barátaimnak, akik végig támogattak és mellettem álltak.

8. IRODALOMJEGYZÉK

1. Abad, Z. G., Creswell, T., Jones, R. K., and Shew, H. D. (1994). Occurrence of *Phytophthora* species on various hosts in North Carolina. *Plant Disease*, 78, 830C. <https://doi.org/10.1094/pd-78-0830c>
2. Agromedium (Digitális szerjegyzék és információs adatbázis). Letöltés dátuma: 2024.03.10. Forrás: <https://agromedium.com/hu-hu/novenyvedo-szerek/>
3. Al-Ghazali, N. A., Abdalmoohsin, R. G., and Abu-Duka, A. (2022). First Recording of the Fungus *Fusarium oxysporum* that Causes Root Rot and Seeding Death on *Catharanthus*. *ResearchGate*. https://www.researchgate.net/publication/364324878_First_Recording_of_the_Fungus_Fusarium_oxysporum_that_Causes_Root_Rot_and_Seeding_Death_on_Catharanthus_Roseus_L_in_the_Governorates_of_Karbala_and_BabylonIraq?enrichId=rgreq-e8b400e69d45c067461157595398a850-XXXandenrichSource=Y292ZXJQYWdlOzM2NDMyNDg3ODtBUzoxMTQzMtI4MTA5MTYxMjA0NEAxNjY2NTU4MTAyMTM0andel=1_x_3and_esc=publicationCoverPdf
4. Antonelli, C., Biscontri, M., Tabet, D., and Vettraino, A. M. (2022). The Never-Ending presence of *Phytophthora* species in Italian nurseries. *Pathogens*, 12(1), 15. <https://doi.org/10.3390/pathogens12010015>
5. Armengol, J., Moretti, A., Perrone, G., Civera, A. V., Bengoechea, J., and García-Jiménez, J. (2005). Identification, incidence and characterization of *Fusarium proliferatum* on ornamental palms in Spain. *European Journal of Plant Pathology*, 112(2), 123–131. <https://doi.org/10.1007/s10658-005-2552-6>
6. Aruna, M., Prabha, M. S., Priya, N. V., and Nadendla, R. (2015). *Catharanthus Roseus*: Ornamental Plant Is Now Medicinal Boutique. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 5(3). <https://doi.org/10.22270/jddt.v5i3.1095>
7. Aslam, J., Khan, S. H., and Siddiqui, Z. H. (2010). *Catharanthus Roseus* (L.) G. Don. An Important Drug: Its Applications And Production. *International Journal Of Comprehensive Pharmacy*, 4(12), 1–16. <https://www.sid.ir/En/Journal/ViewPaper.aspx?ID=487559>
8. Ayob, F. W., and Simarani, K. (2016). Endophytic filamentous fungi from a *Catharanthus roseus* : Identification and its hydrolytic enzymes. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(3), 273–278. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2016.04.019>

9. Baysal-Gurel, F., Bika, R., Simmons, T., and Avin, F. A. (2022). Identification and Management of *Phytophthora* Aerial Blight Caused by *Phytophthora nicotianae* on *Catharanthus roseus*. *Plant Disease*, 106(4), 1271–1277. <https://doi.org/10.1094/pdis-06-21-1342-re>
10. Belisario A., Cacciola S. O. and Magnano Di San Lio, G. (1997). *Phytophthora cactorum* on walnut seedlings in Italian nurseries. *European Journal of Plant Pathology*, 27: 137-146.
11. Benhamou, N., and Chet, I. (1997). Cellular and Molecular Mechanisms Involved in the Interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 63, 5. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1389174/pdf/hw2095.pdf>
12. Boevink, P. C., Birch, P. R. J., Turnbull, D., and Whisson, S. C. (2020). Devastating intimacy: the cell biology of plant–*Phytophthora* interactions. *New Phytologist*, 228(2), 445–458. <https://doi.org/10.1111/nph.16650>
13. Cai, W., Tian, H., Liu, J., Fang, X., and Zhang, N. (2021). *Phytophthora cactorum* as a Pathogen Associated with Root Rot on Alfalfa (*Medicago sativa*) in China. *Plant Disease*, 105(1), 231. <https://doi.org/10.1094/pdis-04-20-0815-pdn>
14. Carbone, I., Kohn, L.M. (1999). A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia* 91: 553–556.
15. De Andrade Lourenço, D., Branco, I., and Choupina, A. (2022). A systematic review about biological control of phytopathogenic *Phytophthora cinnamomi*. *Molecular Biology Reports*, 49(10), 9947–9962. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07547-2>
16. Drenth, A., and Sendall, B. (2021). *Panduan Praktis Deteksi dan Identifikasi Jenis Phytophthora versi 1.0: Practical Guide for Detection and Identification of Phytophthora*. Unhas Press.
17. Guarnaccia, V., Aiello, D., Polizzi, G., Crous, P. W., and Sandoval-Denis, M. (2019). Soilborne diseases caused by *Fusarium* and *Neocosmospora spp.* on ornamental plants in Italy. *Phytopathologia Mediterranea*, 58(1), 127–137. https://doi.org/10.14601/phytopathol_mediterr-23587
18. Hafizi, R., Salleh, B., and Zakaria, L. (2013). Morphological and molecular characterization of *Fusarium solani* and *F. oxysporum* associated with crown disease of oil palm. *Brazilian Journal of Microbiology (Impresso)*, 44(3), 959–968. <https://doi.org/10.1590/s1517-83822013000300047>

19. Hami, A., Rasool, R. S., Khan, N. A., Mansoor, S., Mir, M. A., Ahmed, N., and Masoodi, K. Z. (2021). Morpho-molecular identification and first report of *Fusarium equiseti* in causing chilli wilt from Kashmir (Northern Himalayas). *Scientific Reports*, *11*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82854-5>
20. Hantula, J., Lilja, A., Nuorteva, H., Parikka, P., and Werres, S. (2000). Pathogenicity, morphology and genetic variation of *Phytophthora cactorum* from strawberry, apple, rhododendron, and silver birch. *Mycological Research*, *104*(9), 1062–1068. <https://doi.org/10.1017/s0953756200002999>
21. Hegde, K. T., Narayanaswamy, H., and Veeraghanti, K. S. (2018). Morphological and cultural characteristics of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* under laboratory condition. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *7*(4), 2839–2842. <https://www.phytojournal.com/archives/2018/vol7issue4/PartAV/7-4-262-733.pdf>
22. Ho, H. H. (2018). The Taxonomy and Biology of *Phytophthora* and *Pythium*. *Journal of Bacteriology and Mycology: Open Access*, *6*(1). <https://doi.org/10.15406/jbmoa.2018.06.00174>
23. Hossain, M. A., Islam, F., Khanam, N., Islam, M. M., and Hossain, M. S. (2009). *Phytophthora parasitica* causing *Catharanthus* blight and its biological control. *Journal of Agroforestry and Environment*, *3*(1), 123–126. <https://jaebd.net/wp-content/uploads/2018/09/30.-Phytophthora-parasitica-causing-Catharanthus-blight-and-its-biological-control-M.A.-Hossain-F.-Islam-N.-Khanam-M.M.-Islam-a.pdf>
24. Kharwar, R. N., Verma, V. C., Strobel, G., and Ezra, D. (2008). The endophytic fungal complex of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Current Science Association*, *95*(2), 228–233.
25. Kumar, A., Patil, D., Rajamohanan, P. R., and Ahmad, A. (2013). Isolation, Purification and Characterization of Vinblastine and Vincristine from Endophytic Fungus *Fusarium oxysporum* Isolated from *Catharanthus roseus*. *PLOS ONE*, *8*(9), e71805. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071805>
26. Lecomte, C., Alabouvette, C., Edel-Hermann, V., Robert, F., and Steinberg, C. (2016). Biological control of ornamental plant diseases caused by *Fusarium oxysporum*: A review. *Biological Control*, *101*, 17–30. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.06.004>
27. Leslie, J. F., and Summerell, B. A. (2006a). Morphological Characters. In *The Fusarium Laboratory Manual* (pp. 111–119). <https://doi.org/10.1002/9780470278376.ch12>

28. Leslie, J. F., and Summerell, B. A. (2006b). Species Descriptions. In *The Fusarium Laboratory Manual* (pp. 121–278). <https://doi.org/10.1002/9780470278376.ch13>
29. Meszka, B. and Michalecka, M. (2016). Identification of *Phytophthora* spp. isolated from plants and soil samples on strawberry plantations in Poland. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 123:29–36.
30. Milenković, I., Nowakowska, J.A., Oszako, T., Mladenović, K., Lučić, A., Rakonjac, L. and Karadžić, D. (2014). Morphological and molecular identification of *Phytophthora* species from maple trees in Serbia. *Genetika*, 46: (2) 353-368. <https://doi.org/10.2298/GENSR1402353M>
31. Mishra, J. N., and Verma, N. K. (2017). A brief study on *Catharanthus Roseus*: A review. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(2), 20–23. <http://www.pharmacyjournal.in/archives/2017/vol2/issue2/2-2-15>
32. Moralejo, E., Pérez-Sierra, A., Álvarez, L. A., Belbahri, L., Lefort, F., and Descals, E. (2009). Multiple alien *Phytophthora* taxa discovered on diseased ornamental plants in Spain. *Plant Pathology*, 58(1), 100–110. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.01930.x>
33. Mora-Sala, B., León, M., Pérez-Sierra, A., and Abad-Campos, P. (2022). New reports of *Phytophthora* species in plant nurseries in Spain. *Pathogens*, 11(8), 826. <https://doi.org/10.3390/pathogens11080826>
34. Moretti, A. (2009). Taxonomy of *Fusarium* genus: A continuous fight between lumpers and splitters. *Zbornik Matice Srpske Za Prirodne Nauke*, 117, 7–13. <https://doi.org/10.2298/zmspn0917007m>
35. Mycobank1 (Mycobank Database). Letöltés dátuma: 2023.11.20. Forrás: <https://www.mycobank.org/page/Name%20details%20page/41506>
36. Mycobank2 (Mycobank Database). Letöltés dátuma: 2023.11.20. Forrás: <https://www.mycobank.org/page/Name%20details%20page/38014>
37. Nébih (Növényvédő szerek adatbázisa). Letöltés dátuma: 2023.10.18. Forrás: <https://novenyvedoszer.nebih.gov.hu/Engedelykereso/kereso>
38. Nejat, N., Valdiani, A., Cahill, D. M., Tan, Y. H., Mahmood, M., and Abiri, R. (2015). Ornamental Exterior versus Therapeutic Interior of Madagascar Periwinkle (*Catharanthus roseus*): The Two Faces of a Versatile Herb. *the Scientific World Journal/TheScientificWorldjournal*, 2015, 1–19. <https://doi.org/10.1155/2015/982412>

39. Nelson, P. E., Dignani, M. C., and Anaissie, E. (1994). Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. *Clinical Microbiology Reviews*, 7(4), 479–504. <https://doi.org/10.1128/cmr.7.4.479>
40. Nguyen, T. N., Doan, V., and Nguyen, A. D. (2022). Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activities of Different Fractions Obtained from Endophytic *Fusarium solani* F01 Isolated in *Catharanthus roseus* Collected in Vietnam. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 56(2), 461–469. <https://doi.org/10.5530/ijper.56.2.67>
41. Nikitin, Dmitry A., Ekaterina A. Ivanova, Mikhail V. Semenov, Alena D. Zhelezova, Natalya A. Ksenofontova, Azida K. Tkhakakhova, and Vladimir A. Kholodov. (2023.) "Diversity, Ecological Characteristics and Identification of Some Problematic Phytopathogenic *Fusarium* in Soil: A Review" *Diversity* 15, no. 1: 49. <https://doi.org/10.3390/d15010049>
42. Paarakh, M., Swathi, S., Taj, T., Tejashwini, V., and Tejashwini, B. (2019). *Catharanthus Roseus* Linn—A review. *Acta Scientific Pharmaceutical Sciences*, 3(10), 19–24. <https://doi.org/10.31080/asps.2019.03.0393>
43. Patel, J. S., Vitoreli, A., Palmateer, A. J., El-Sayed, A. S. A., Norman, D. J., Goss, E. M., Brennan, M., and Ali, G. S. (2016). Characterization of *Phytophthora* spp. Isolated from Ornamental Plants in Florida. *Plant Disease*, 100(2), 500–509. <https://doi.org/10.1094/pdis-05-15-0598-re>
44. Patra, S., and Biswas, M. K. (2017). Studies On Cultural, Morphological And Pathogenic Variability Among The Isolates Of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* Causing Wilt Of Chickpea. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 7(1), 11–16. <https://doi.org/10.21276/Ijpaes>
45. Singh, S., Kumar, R., Yadav, S., Kumar, R., Kumari, P., and Singh, R. K. (2018). Effect of bio-control agents on soil borne pathogens: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(3), 406–411. <https://www.phytojournal.com/archives/2018/vol7issue3/PartF/7-2-600-894.pdf>
46. Srivastava, S., Kadooka, C. Y., and Uchida, J. Y. (2018). *Fusarium* species as pathogen on orchids. *Microbiological Research*, 207, 188–195. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.12.002>
47. Summerell, B. A. (2019). Resolving *Fusarium*: Current status of the genus. *Annual Review of Phytopathology*, 57(1), 323–339. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100204>

48. Tsedaley, B. (2014). Late Blight of Potato (*Phytophthora infestans*) Biology, Economic Importance and its Management Approaches. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 4(25), 215–225.
<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20153005832>
49. Tu, N. H. K., Thuy, N. T. T., Vinh, D. T. T., Anh, N. P. Q., and Ly, H. D. (2021). Detection of Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxicity Activities of *Fusarium oxysporum* F01 Isolated from *Catharanthus roseus* Collected in Vietnam. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 15(3), 1643–1654.
<https://doi.org/10.22207/jpam.15.3.61>
50. Wang, M., Chen, Q., Diao, Y., Duan, W., and Cai, L. (2019). *Fusarium incarnatum-equiseti* complex from China. *Persoonia*, 43(1), 70–89.
<https://doi.org/10.3767/persoonia.2019.43.03>
51. White, T.J., Bruns, T., Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: A Guide to Molecular Methods and Applications (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White JW, eds). Academic Press, New York: 315–322.
52. Wickland, A. C., Jensen, C., and Rizzo, D. M. (2008). Geographic distribution, disease symptoms and pathogenicity of *Phytophthora nemorosa* and *Phytophthora pseudosyringae* in California, USA. *Forest Pathology*, 38(4), 288–298.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2008.00552.x>
53. Yasir, L. B., and Al-Maliky, B. S. A. (2023). 2023. Integrated Control Of Root Rot And Wilt Disease On *Catharanthus Roseus* Using Biological And Chemical Control: Integrated Control Of Root Rot And Wilt Disease On *Catharanthus Roseus* Using Biological And Chemical Control. *Iraqi Journal of Market Research and Consumer Protection*. 15, 1 (Jun. 2023), 132–146. <https://doi.org/10.28936/jmracpc15.1.2023.12>
54. Zakaria, L. (2023). *Fusarium* Species Associated with Diseases of Major Tropical Fruit Crops. *Horticulturae*, 9(3), 322. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9030322>

NYILATKOZAT

a diplomadolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Borsos Dóra Piroska
A Hallgató Neptun kódja: IZI60C
A dolgozat címe: *Catharanthus roseus* növényfajt talajból fertőző kórokozók vizsgálata
A megjelenés éve: 2024.
A konzulens intézetének neve: Növényvédelmi Intézet
A konzulens tanszékének a neve: Növénykórtani Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott diplomadolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemi tulajdonkezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelte után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: 2024. április 19.



Hallgató aláírása

NYILATKOZAT

Borsos Dóra Piroska (hallgató Neptun azonosítója: IZI60C) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a diplomadolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A záródolgozatot/szakedolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót a záróvizsgán történő védeésre **javaslom** / **nem javaslom**.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem

Kelt: 2024. április 19.



belső konzulens