

DIPLOMADOLGOZAT

Varga Máté

Varga Máté
2023



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Budai Campus

Növényvédelmi Intézet

Növényorvos mesterképzési szak

**KISKÖRÖSÖN REBARBARA (*RHEUM RHABARBARUM*)
ÁLLOMÁNYBAN ELŐFORDULÓ KÓROKOZÓK
AZONOSÍTÁSA**

Belső konzulens: Dr. Tóth Annamária

egyetemi adjunktus, Növényvédelmi Intézet, Növénykórtani Tanszék

Belső konzulens: Dr. Karacs-Végh Anita

egyetemi docens, Növényvédelmi Intézet, Növénykórtani Tanszék

Készítette: Varga Máté

Budapest

2023

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és célkitűzés	5
2. Irodalmi áttekintés	6
2.1. A rebarbara elterjedése.....	6
2.2. A rebarbara rendszertana és botanikai leírása	6
2.3. A rebarbara környezeti igényei.....	7
2.4. A rebarbara termesztéstechnológiája	7
2.5. A rebarbara gazdasági jelentősége	9
2.6. A rebarbara felhasználása	9
2.7. A rebarbara beltartalmi értékei	10
2.8. A rebarbara károsítói.....	11
2.9. Dolgozatom alapját képző fontosabb kórokozók jellemzése	12
2.9.1. <i>Pseudomonas orientalis</i>	12
2.9.2. <i>Pseudomonas marginalis</i>	14
2.9.3. <i>Alternaria alternata</i>	16
2.9.4. <i>Ramularia rhei</i>	18
2.9.5. <i>Peronospora jaapiana</i>	20
2.9.6. <i>Erysiphe polygoni</i>	22
3. Anyag és módszer	24
3.1. A vizsgálat helye és ideje	24
3.2. A vizsgálatban felhasznált anyagok	25
3.2.1. Vizsgált izolátumok.....	25
3.2.2. A kórokozók tenyésztése, táptalajok	25
3.2.3. Vizsgáltba vont növények	26
3.2.4. Felhasznált eszközök.....	26
3.3. Vizsgálat módszere	27
3.3.1. Növényi részek gyűjtése és tárolása.....	27
3.3.2. Tünetek jellemzése	27
3.3.3. A termesztés módszere	27
3.3.4. Kórokozók izolálása táptalajon	28
3.3.5. Növénypatogén baktériumokra irányuló vizsgálati módszerek	30
3.3.6. Patogenitási teszt	31
3.3.7. Molekuláris vizsgálat	33
4. Eredmények.....	36

4.1. Növénypatogén baktériummal végzett vizsgálatok eredményei	36
4.1.1. Kórokozó izolálása	36
4.1.2. Tenyészbélyeg jellemzése	36
4.1.3. Gram tulajdonság	37
4.1.4. LOPAT teszt.....	37
4.1.5. Patogenitási teszt	38
4.1.6. Kórokozó azonosítása molekuláris módszerrel.....	38
4.2. Növénypatogén gombákkal végzett vizsgálatok eredményei.....	40
4.2.1. A 2022-es mintagyűjtés eredményei	40
4.2.1.1 <i>Alternaria alternata</i>	41
4.2.1.2 <i>Ramularia rhei</i>	44
4.2.2. A 2023-as mintagyűjtés eredményei	44
4.2.2.1 <i>Peronospora jaapiana</i>	45
4.2.2.2 <i>Erysiphe polygoni</i>	46
5. Következtetés.....	48
6. Összefoglalás.....	51
7. Köszönetnyilvánítás	52
8. Irodalomjegyzék.....	53
9. Internetes hivatkozások.....	56
10. Ábrák és táblázatok jegyzéke.....	57

1. Bevezetés és célkitűzés

A rebarbara (*Rheum rhabarbarum*) géncentrumának Kína tekinthető, ott terjedt el elsőnek igazán, mint gyógyhatású növény **(Roggemans és Boxus, 1988)**. Európai termesztésének központja kezdetekben Anglia volt, ahol a 18. századtól vált ismertté zöldségnövényként. Főzelékként, savanyúságként, valamint gyümölcspótlásra és ízesítésre is használták. Hazánkban már régóta fellelhető, de még a kevésbé ismert zöldségnövényeink közé tartozik, hiszen termesztése a hazai viszonylatban nem jellemző. Európai szinten a termesztése magasabb színvonalat mutat, hiszen a fő termesztő körzetei Hollandia, Németország, Dánia és Belgium **(Dregus et al., 2001)**.

A rebarbara évelő növény, amely mélyre nyúló gyökérzetet képez és csak a második évtől kezdve nevel magházat **(Dene, 1910)**. A rebarbarának hosszú színes levélnyele és nagyméretű levelei vannak **(Natter-Nád, 1962)**. A rebarbara fogyasztható része a levélnyel, mely a telepítéstől kezdve a második évtől szedhető, akár 8-10 éven keresztül **(Lőrincz, 2007)**. A levéllemezben felhalmozódott oxálsav tartalom mérgező, ezért ezt áruvá készítéskor el kell távolítani **(Taun, 2011)**.

A rebarbara felhasználását tekintve számottevő, hiszen a vegyiparban, élelmiszeriparban, textiliparban és gyógyszeriparban is jelen van **(Dregus et al., 2001)**.

A rebarbara vitaminokban gazdag növény, melyben fellelhető A-, B1-, B2-, és C-vitamin is. A fanyar savanykás íze annak köszönhető, hogy szerves savak közül jelen van benne alma-, citrom-, és oxálsav is **(Vukovics, 2006)**.

A dolgozatomban említésre kerül a rebarbarán előforduló főbb károsítók ismertetése, de a dolgozatom alapját családi gazdaságunk szabadföldi rebarbara állományban előforduló kórokozók bemutatása, feltérképezése képzi, hiszen kevés hazai és nemzetközi adatot találtunk ezzel kapcsolatosan.

A kutatás során célunk volt 2022-2023 között, különböző tüneteket mutató, beteg levelekről a kórokozók izolálása, klasszikus és molekuláris módszerekkel történő azonosítása, hogy választ kaphassunk, hogy mely kórokozók fordulhatnak elő és okozhatnak jelentős kárt hazai, szabadföldi állományban. További célunk volt még az izolált kórokozók patogenitásának igazolása, valamint a biotróf kórokozók esetében a szaporító képletek jellemzése is.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A rebarbara elterjedése

A rebarbara (*Rheum rhabarbarum*) géncentrumának Kína tekinthető, ott terjedt el elsőnek igazán, mint gyógyhatású növény (**Roggemans és Boxus, 1988**). A rebarbarát, mint zöldségnövényt körülbelül a 18. század óta ismerhetjük. Termesztésének központja kezdetekben Anglia volt, gyümölcspótlásra, főzelék és savanyúság, sütemény, ízesítésre használták. Az ottani ismeretségnek köszönhetően került át az európai országokba. Hazánkban már több mint 100 éve fellelhető, de eleinte főúri kertekben terjedt el, mint dísnövény, hiszen jellegzetes alakja és levélmérete rendkívül díszítő jellegű. Magyarországon a mai napig nem igazán ismert növény, hiszen Európában a fő termesztő körzetei Hollandia, Németország, Dánia és esetlegesen Belgium (**Dregus et al., 2001**).

2.2. A rebarbara rendszertana és botanikai leírása

A rebarbara (*Rheum rhabarbarum*) a zárvatermők (*Magnoliophyta*) törzsébe, a szegfűvirágúak (*Caryophyllales*) rendjébe és a keserűfűfélék (*Polygonaceae*) családjába tartozik.

A rebarbara egy lágyszárú évelő növény, melynek fontos tulajdonsága, hogy az első években fás karógyökeret és levéllomboatot fejleszt, és csak a második évtől kezdve nevel magszárat (**1. ábra**). A rebarbara nagyméretű gyöktörzset képez, ami igen mélyre hatoló. A gyökér már az első nyáron 30-90 cm hosszú, a második év őszére pedig eléri a 150 cm-es méretet is. Mélyre nyúló gyökérzetének vastagsága akár 12-15 cm is lehet (**Dene, 1910**).

A fogyasztott rész a levéllyél, amelynek mérete és hosszúsága fajtától eltérő, de átlagosan 30-60 cm hosszú, és vastagsága 2-3 cm, de akár elérheti az 5-6 cm-t is. Levéllyelét tekintve lehet zöld levéllyelű-zöldhúsú, piros levéllyelű-zöld húsú és piros levéllyelű-piros húsú (**Natter-Nád, 1962**).



1. ábra: Rebarbara ültetvény (Fotó: Varga, 2022)

2.3. A rebarbara környezeti igényei

A rebarbara fényigényével kapcsolatban kiemelendő, hogy a legtöbb zöldségfajjal ellentétben a félárnyékos körülmények sem gátolják a fejlődését. A hőmérsékleti optimuma 12-15 °C között alakul. A rebarbara a fagyra nem érzékeny növény, takarás nélkül elviseli a mínusz 2-3 °C hidegeket is. A téli időszakok után a hajtás fejlődése akár már 4-5 °C-on is megindul **(Dregus et al., 2001)**.

A rebarbara a jó vízgazdálkodású területeken fejlődik igazán jól. Túlöntözést, pangó vizet nem kedveli. Meleg nyári napokon, a lombozat mérete miatt is öntözést igényel **(Taun, 2011)**.

Mivel a rebarbarát évelőként termesztjük, célszerű szervezetrágyát a talajba dolgozni az állomány telepítését megelőzően, majd tenyészidőszakban lombtrágyás kezelésekkel biztosítani a szükséges tápanyag mennyiséget **(Balázs et al., 1987)**. A rebarbara talajra nem különösen igényes, szakirodalmi források szerint sikeresen termeszthető homokos, de akár vályogos talajokon is **(Jeszenszky, 1931)**.

2.4. A rebarbara termesztéstechnológiája

1. Szaporítás

A rebarbara termesztése nagyüzemi körülmények között indulhat helyrevetéssel. Másik elterjedt szaporítási mód a palántanevelés. A magokat április végén, május elején érdemes szaporítótálcába elhelyezni, és fűtetlen fólia alatt fokozatos öntözés mellett nevelni. Az elvetett magok kelési ideje 10-14 nap után figyelhető meg **(Lőrincz, 2007)**.

Egy régi termesztési leírás a rebarbarát 30x30 térállásra javasolta, de a friss szakirodalmi források 1,5.-2m sortávolságot ajánlanak **(Montgomery, 1930)**. A rebarbara palánták állandó helyére való kiültetésére a következő év tavaszán kerül sor átlagosan 1,5x2m tőtávolsággal **(Dorogi, 1988)**.

Tőosztás esetén, a 4 évnél idősebb, vagy a kivágásra szánt 8-10 éves töveket, a rügykezdemények melletti jó gyökérzettel, 4-6 részre lehet vágni, és egyből az új végleges helyére ültetni. Tőosztás esetében előny, hogy csak a legjobb, legerősebb növényeket szaporítjuk. A tőosztással szaporított növények szinte azonnal termőre fordulnak, így már az első év májusának végétől kisebb mennyiségben szedhetők **(Terbe, 2000)**.

2. Ápolási munkák

A rebarbara a kezdeti fejlődési stádiumokban igényel intenzívebb ápolást, mint például a gyomirtás, kapálás, hiszen a későbbi időkben a nagyméretű levelek elég árnyékot vetnek az

ágyásra, így a tenyészidőszak folyamán a gyomok megjelenésével egyre kevésbé kell számolnunk **(Nonn, 1910)**.

A rebarbara minden évben újabb virágot hoz, amely csökkenti a növény növekedési erélyét, a levél és levélnyéltermelést, ezért érdemes őket eltávolítani **(Taun, 2011)**.

3. Szedés

A rebarbarának a levélnyelét fogyasztjuk, a levéllemez magas oxálsav tartalma miatt mérgező, ezért áruvá készítéskor az utóbbit el kell távolítani **(2. ábra)**. Mind a helyrevetett, mind a palántáról ültetett állományban a levélnyelek a második évtől értékesíthetők, általában április végétől június közepéig. Általános leírás szerint a 10-15 centiméteres levélnyelek már szedhetőek **(Taun, 2011)**.

Fontos, hogy a szedés kézzel történjen, úgy hogy a levélnyelet megfogjuk, és erőteljesen felfelé húzzuk, ügyelni kell rá, hogy szedéskor a hajtáskezdemény ne sérüljön. Késsel semmiféleképpen nem szabad szedni, hiszen a visszamaradott levágott rész rothadni kezdhet, és negatív hatással van a növény egészségére **(Taun, 2011)**.



2. ábra: Rebarbara szedése (Fotó: Varga, 2022)

Fontos tényező még, hogy az első szedés alkalmával növényenként csak 3-4 levélnyelet szedjünk, hiszen ezzel segíthetjük a növény fejlődését **(Dorogi, 1988)**.

4. Tárolás

A rebarbaráról leszedett friss levélnyeleket 2-4 hétig tárolhatjuk műanyag zsákokban, hűtőszekrényben elhelyezve, de a levélnyelek fagyaszthatók is **(Taun, 2011)**.

A zöldségek tartósítására egyik legalkalmasabb módszer a fagyasztás. A fagyasztás előkövetelményei a válogatás, mosás, hámozás, szeletelés és a csomagolás. Bebizonyosodott,

hogy a rebarbara nyele, 90-95% relatív páratartalom mellett, a mínusz 8 °C mínusz 12 °C között kiválóan tárolható és stabil marad **(Howard, 1967)**.

2.5. A rebarbara gazdasági jelentősége

A rebarbara évelő növény, amely ültetése után 1-2 évvel szedhető, akár 8-10 éven keresztül **(Lőrincz, 2007)**.

A rebarbarát, mint gyógyhatású növényt, először Kínában termesztették, ezen a területen akkoriban még nem zöldségnövényként hasznosították **(Roggemans és Boxus, 1988)**.

Az angol kertekben zöldségnövényként elterjedő rebarbarát, a 18. században kezdték termesztetni az Észak- és Nyugat-európai országokban **(Dregus et al., 2001)**. A rebarbara gyorsan elterjedt és népszerűvé vált Észak-Amerikában és Észak-Európában. Népszerűsége oly szinten növekedett, hogy még Kanadában és Alaszkában is termesztetni kezdték. Az 1930-as években a Kent-Puyallup völgyben, majd az 1970-es években a Willamette-völgyben kisebb termelők összefogtak, hogy stabilizálják a piacok fejlődését és a rebarbara termesztés múltját megőrizték **(Clifford és Dale, 1991)**. Erdélyben is elterjedt a rebarbara termesztése, hiszen a hegyi éghajlat kedvező számára **(Daniel, 2007)**.

Európai országok közül elsősorban Németországban, Angliában és Franciaországban termesztik **(Cojocar et al., 2020)**.

Különböző exportáló országai is vannak, mint például Hollandia, Belgium, Németország és Franciaország. Az elmúlt 10 évben Lengyelországban való termelése és Németország felé történő exportja is jelentős **(Dregus et al., 2001)**.

2.6. A rebarbara felhasználása

A rebarbara első felhasználása gyógyhatásához kötődik **(Roggemans és Boxus, 1988)**. A legfontosabb gyógyhatású növényi része a gyökere, főként gyulladásos megbetegedések ellen hatásos **(He et al., 2009)**.

A rebarbara gyökeréből antipszoriátikus gyógyszerkészítményeket állítottak elő, valamint alkalmazták gyomorfájdalom, hányinger, aranyér és a hasmenés ellen **(Rápóti és Rom Váry, 1997; Eman et al., 2016)**.

A rebarbara széles körben felhasználható vegyipar, élelmiszeripar, gyógyszer és textiliparban is egyaránt **(Dregus et al., 2001)**.

A rebarbara levélnyelét különböző konyhai készítmények készítésére használják, készülhet leves, édesség, pite és kompót is egyaránt **(3. ábra) (Cojocar et al., 2020)**.



3. ábra: Rebarbara elkészítésének módjai, felhasználása (Forrás: Internet 1)

2.7. A rebarbara beltartalmi értékei

A rebarbara levélnyelében és levéllemezében találhatóak olyan szerves savak, mint az alma-, citrom-, és oxálsav melyeknek köszönhetően érezhető fanyar savanykás íze. Ezek mellett említésre méltóak a növényi rostok, fellelhető benne A-, B1-, B2-, és C-vitamin, és kiemelkedően sok benne a kálium, kalcium, foszfor, magnézium, vas és szelén **(Vukovics, 2006; Blázovics, 2016)**.

A levélnyel színe alapján megállapítható, hogy a vörös színű nyél nagyobb mennyiségben tartalmaz vitamint a zöld színű nyelekkel szemben. Az A-vitamin bevitele az emberi szervezetre is jó hatással van, hiszen javítja a bőr és nyálkahártya épségét. Az A-vitamin mellett a K-vitamin is fontos szerepet játszik a csontok regenerálódásában. A modern, energiaszegény, vitamindús és rostban gazdag, változatos táplálkozás egyik új növénye **(Umesh, 2009)**. A vöröskáposzta és lilahagyma mellett a rebarbarában is nagy mennyiségben előfordulnak antocianinok **(Hegedűs, 2013)**.

A rebarbarában található szerves savak közül legjelentősebb mértékben az oxálsav van jelen. Az oxálsav a rebarbarán kívül előfordulhat gyümölcsökben, magvakban, kakaóban és például a dióban is. A levélnyel kevesebb mértékben tartalmaz oxálsavat, mint a levéllemez, a legmagasabb oxálsav tartalom a levélben 0,5 – 1,0 % is lehet. **Elise (2020)** a rebarbarában 100 grammonként 570-1900 mg oxálsavat mért. A rebarbara fogyasztásánál fokozottan kell figyelniünk a bevitt mennyiségre, hiszen ha túl sok rebarbarát fogyasztunk, akkor kiválthat

számos olyan tünetet, mint például a görcsös hasi fájdalom vagy hányinger. A magas oxálsav tartalom vesekő képződésre hajlamosít (Elisabetta *et al.*, 2010).

2.8. A rebarbara károsítói

A rebarbara annak ellenére, hogy egy ellenálló növényfajnak tekinthető, mégis számolnunk kell a termesztés során kártevőkkel és kórokozókkal. A rebarbarán előforduló károsítók közül a kártevők száma kevesebb, azonban van néhány, amelyről ismert, hogy a rebarbara növényen táplálkozik. A táblázatban a szakirodalmi adatok alapján a rebarbarán előforduló kártevőket és kórokozókat ismertetem (1. és 2. táblázat) (Internet 2; Howard *et al.*, 1996).

A 4. ábra a saját ültetvényünkben lefotózott *Limax maximus*-t (meztelencsiga) és *Lygus lineolaris*-t (foltos növényi poloska) szemlélteti.

1. táblázat: A rebarbara kártevői (Forrás: Internet 2)

Magyar név	Latin név
Fekete bab levéltetű	<i>Aphis fabae</i>
Meztelencsiga	<i>Limax maximus</i>
Rebarbarabogár	<i>Rhubarb curculio</i>
Burgonya szárfűró	<i>Hydraecia micacea</i>
Foltos növényi poloska	<i>Lygus lineolaris</i>



4. ábra: Meztelencsiga és foltos növényi poloska a rebarbara állományban (Fotó: Varga, 2023)

2. táblázat: A rebarbara kórokozói (Forrás: Howard *et al.*, 1996)

Betegség neve	Kórokozó neve
Rebarbara alternáriás levélfoltossága	<i>Alternaria</i> spp.
Rebarbara ramuláriás levélfoltossága	<i>Ramularia rhei</i>
Rebarbara aszkohítás levélfoltossága	<i>Ascochyta rhei</i>
Rebarbara peronoszpóra	<i>Peronospora jaapiana</i>
Szürkepenész	<i>Botrytis cinerea</i> (Syn.: <i>Botryotinia fuckeliana</i>)
Rebarbaralisztharmat	<i>Erysiphe polygoni</i>
Rebarbararozsda	<i>Puccinia phragmitis</i>
Baktériumos gyökérgolyva	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
Vörös levél (bakteriális lágyrothadás)	<i>Erwinia rhapontici</i> (<i>Bacterium rhapontici</i>)

2.9. Dolgozatom alapját képző fontosabb kórokozók jellemzése

2.9.1. *Pseudomonas orientalis*

A *Pseudomonas orientalis* a *Proteobacteria* törzsbe, a *Gammaproteobacteria* osztályba, a *Pseudomonadales* rendbe és a *Pseudomonadaceae* családba tartozik **(Internet 3)**. A kórokozót Dabboussi és munkatársai írták le először 1999-ben, amit egy libanoni forrásból izoláltak **(Dabboussi *et al.*, 1999)**.

A *Pseudomonas orientalis* világszinten kevésbé elterjedt kórokozó. Egyes források szerint a kórokozót azonosították Ecuador, India, Kína, Amerikai Egyesült Államok, Spitzbergák, Libanon területén, valamint Európai országok közül Németországban, Ausztriában, Spanyolországban és Franciaországban **(5. ábra) (Internet 4)**.



5. ábra: *Pseudomonas orientalis* földrajzi elterjedése

A *Pseudomonas orientalis* egy Gram-negatív, pálcika alakú baktérium. Kimutatták, hogy a kórokozó képes a fehérjékben gazdag ételekben fennmaradni. Ezt bizonyította az, hogy a kórokozó két törzsét (P49, P110) lazacfiléből izolálták, majd a 16S rRNS gén vizsgálata során azonosították a törzseket **(Leja et al., 2019)**.

Egy vizsgálat során kimutatták, hogy Irán északi részén beteg citruslevelekből és szárazból izolált *Pseudomonas orientalis* baktérium patogén a citrusfélékre **(Beiki et al., 2016)**. A *Pseudomonas orientalis* F9 törzsét sikerült izolálni egy svájci gyümölcsösben lévő almavirágokból **(Santos Kron et al. 2020)**.

Egy másik szakirodalom is beszámol arról, ahol a *Pseudomonas orientalis* F9 törzsének számos antagonista hatását vizsgálták számos fitopatogén baktériummal szemben, különösen az *Erwinia amylovora*-val, a tűzvész okozójával szemben, mely alapján a kórokozó F9 törzse csökkentette a kórokozó koncentrációját a virágokban, ezek mellett fitotoxikus tulajdonságokat is feltárt **(Zengerer et al., 2018)**.

Egyes szakirodalmak alapján, az Északi-sarkról származó kéregjégmagokban is kimutatták a *Pseudomonas orientalis* baktériumot, melyet a 16S rRNS szekvencia adatok alapján azonosítottak **(Singh et al., 2016)**.

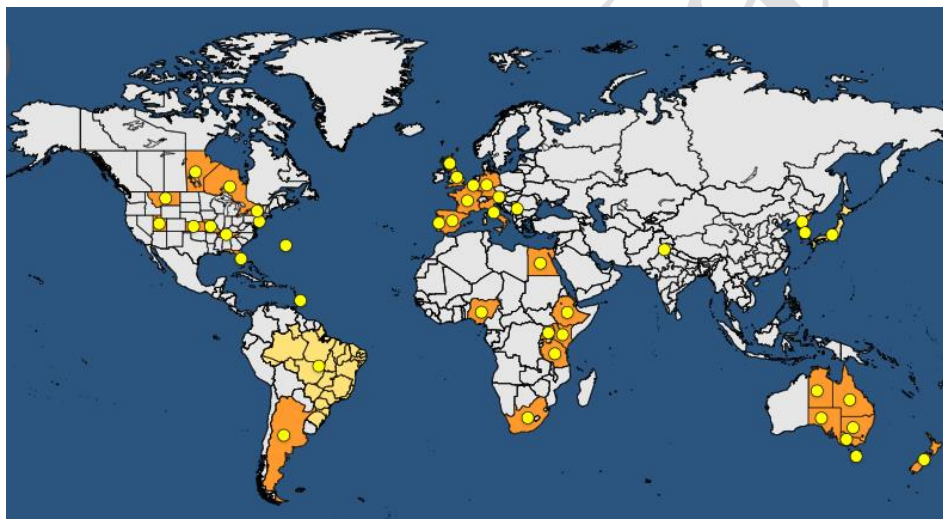
Vizsgálatot végeztek illóolajok antibakteriális hatásának becslésére élelmiszerekből izolált *Pseudomonas orientalis* törzseken. Megfigyelték, hogy a citromfű-, boróka-, feketebors- és a keserűnarancs-olaj a kórokozó P49 törzse ellen bakteriosztatikus hatást fejt ki, ami azt jelenti, hogy leállítja a baktériumok sejtosztódását. Ezzel szemben a kórokozó P110-es törzse érzékeny a lime-, citromfű, rozmaring- és feketebors-olajokra **(Leja et al., 2019)**.

2.9.2. *Pseudomonas marginalis*

A *Pseudomonas marginalis* a *Proteobacteria* törzsbe a *Gammaproteobacteria* osztályba a *Pseudomonadales* rendbe és a *Pseudomonadaceae* családba tartozik **(Internet 5)**.

A kórokozó széles körben elterjedt Európa és a világ különböző pontjain, mint Afrikában, Amerikai Egyesült Államokban, Ázsiában. Európai országok közül Olaszországban, Franciaországban, Belgiumban, Portugáliában, valamint Magyarországgal szomszédos országokban, mint Ausztriában és Szerbiában is azonosították a kórokozót **(6. ábra) (Internet 5)**.

A kórokozót először 1918-ban Brown írta le *Bacterium marginale* néven Dél-Karolinában, majd 1925-ben a kórokozó neve *Pseudomonas marginalis* lett, mely Stevens nevéhez fűződik **(Internet 6)**.



6. ábra: *Pseudomonas marginalis* földrajzi elterjedése (Forrás: Internet 5)

A *Pseudomonas marginalis* jelentős kórokozó, széles gazdanövénykörrel rendelkezik, amely gyümölcsök és zöldségek széles skáláján okoz lágyrothadást **(Achbani et al., 2014)**. Jelentős károkat okoz káposztán, hagymán, uborkán, zöldbabon, borsón. Salátán is kimutatták a kórokozót **(7. ábra) (Internet 7)**.

A kórokozót Kínában, Zhangye körzetben azonosították burgonyáról **(Li et al., 2007)**; Marokkóban hagymán okozott lágyrothadást **(Achbani et al., 2014)**.

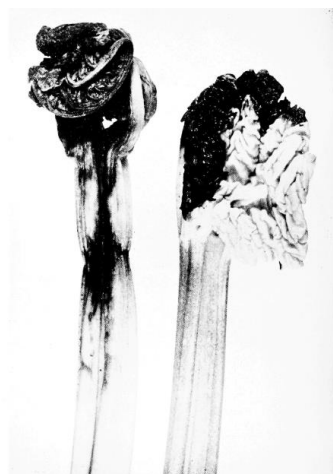


7. ábra: *Pseudomonas marginalis* salátán okozott tünete (Forrás: Internet 8)

Filogenetikai és genomikai elemzések során kiderült, hogy a *Pseudomonas marginalis* esetében egy olyan fajkomplexről beszélhetünk, amely számos fajt tartalmazhat. A szakirodalmi adatok alapján a *Pseudomonas marginalis* azonosítása és vizsgálata során oxidáz, arginin-dihidroláz és burgonya lágyrothadás tekintetében pozitív eredményeket mutatott (Sawada *et al.*, 2022).

Hazánkban a *Pseudomonas marginalis* kórokozót káposztafélék csíranövényeiből sikerült izolálni (Czina *et al.*, 2022).

A *Pseudomonas marginalis* rebarbarán okozott tüneteit a levelek kora befolyásolja. Egy mesterséges fertőzés kimutatta, hogy a rebarbara idősebb levelei fogékonyabbak a kórokozóval szemben, mint a fiatalabb levelek. Az idősebb levelek azok a levelek, amelyek teljesen kifejlődtek, elérték a szedésérett állapotot. A kórokozó a levéllemezen kevésbé, de a levélnyélen puha, nedves, barna rothadásnak induló tüneteket okozott (8. ábra) (Clark és Graham, 1962).



8. ábra: *Pseudomonas marginalis* tünete rebarbarán (Forrás: Sawada *et al.*, 2022)

A *Pseudomonas marginalis* protopektinázokat termel, melynek hatására lebontja a zöldségnövények külső héján található pektineket, melynek következtében a növény lágyult, gyengült és kellemetlen szagú lesz **(Bautista, 2014)**.

A *Pseudomonas marginalis* morfológiai és tenyészbélyegeit tekintve pálcika alakú, poláris flagellumokkal rendelkező Gram-negatív baktérium **(Bastas, 2023)**.

2.9.3. *Alternaria alternata*

Az alternária fajok közül az *Alternaria alternata* az *Ascomycota* törzsbe, a *Dothideomycetes* osztályba, a *Pleosporales* rendbe és a *Pleosporaceae* családba tartozik **(Mycobank, 2023)**. A kórokozót 1912-ben írta le először Keissl **(Index Fungorum, 2023)**.

A kórokozó széles körben elterjedt a világ minden táján. Az *Alternaria alternata*-ról Dél-Afrikában számoltak be először, hogy burgonya növényen levélfoltosságot okozott. A kórokozót jelentették Izraelből, Brazíliából és Észak-Amerikából is **(Van der Waals et al., 2011)**. A kórokozót 2004-ben Pakisztánban is azonosították paradicsom növényen **(Akhtar et al., 2004)**. A kórokozót az utóbbi években gerberáról **(Bellé et al., 2019)**; rózsáról **(Fang et al., 2020)**; japánszilváról (*Prunus salicina*) **(Long et al., 2021)** írták le.

Az *Alternaria alternata* az egyik leggyakoribb olyan kórokozó, amely megtalálható számos élelmiszeripari termékben, beleértve magvakban, zöldségben, gyümölcsben **(Barkai-Golan és Follett, 2017)**. Az *Alternaria alternata* több mint 380 gazdanövényfajon megtalálható.

Az *Alternaria alternata* világszerte okoz nekrotikus foltokat számos zöldségen és gyümölcsön. Egyes szakirodalmak szerint, ez egy látens gomba, ami a zöldség és gyümölcstárolás során fejlődik ki, majd a forgalmazási időszakra válik észlelhetővé **(Troncoso-Rojas és Tiznado-Hernández, 2014)**. A betegség tünetei mangón (*Mangifera indica*) 0,5-1 mm méretűek, kis fekete foltokkal, sötét középponttal, vagy sötét lencsefolttal **(Yahia, 2011)**.

Az *Alternaria alternata* egy olyan opportunista kórokozó, amely számos növényi részen levélfoltosságot és rothadást okoz. A mandula levelein a levélfoltosság 12-18 mm átmérőjű, barna foltok formájában jelenik meg, majd idővel a foltok feketévé válnak **(9. ábra) (Internet 9)**.



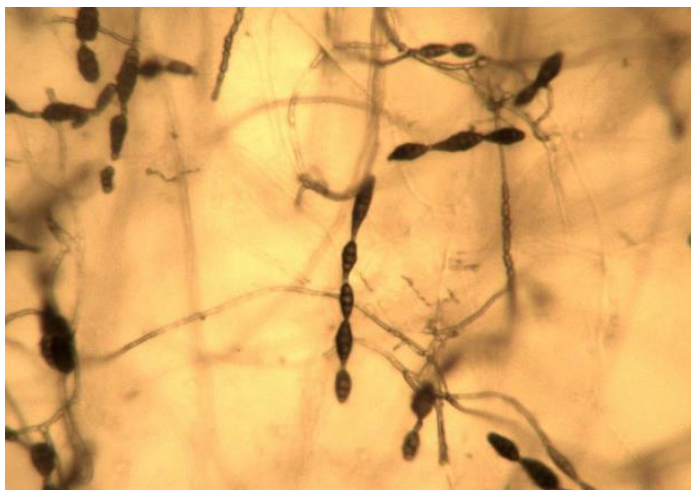
9. ábra: *Alternaria alternata* tünete mandula levelén (Forrás: Internet 9)

A kórokozót 2004-ben azonosították paradicsom növényen Pakisztánban. A növényen a kezdeti tünetek az alsó levelek sárgulásával kezdődött, de leggyakrabban a levélnyélen és levélsúcson alakultak ki. A fertőzés későbbi időszakában a tünetek megnagyobbodtak, összenőttek és koncentrikus körök voltak megfigyelhetők, ami később a levelek zsugorodását okozta (**10. ábra**). A kórokozó jelentős termés kiesést is okozhat (**Akhtar et al., 2004**).



10. ábra: *Alternaria alternata* tünete paradicsom levelén (Forrás: Akhtar et al., 2004)

A kórokozó konídiumai szél segítségével képesek terjedni. A konídiumok állhatnak egyesével, vagy kis csoportokban. Alakjukat és méretüket tekintve lehetnek tojásdadok, ellipszoidok vagy kúposak és $9-18\ \mu\text{m} \times 20-63\ \mu\text{m}$ nagyságúak (**11. ábra**) (**Lopez és Cabral, 1999**).



11. ábra: *Alternaria alternata* konídiumai (Forrás: Internet 10)

A kórokozó számos növényen méretbeli változásokat mutat morfológiai és tenyészbélyegek tulajdonságának tekintetében (**3. táblázat**).

3. táblázat: Az *Alternaria alternata* konídiumok méretei

Vizsgált növény	Konídiumok mérete	Forrás
Rózsa	11,9-27 $\mu\text{m} \times 7,5\text{-}5,1 \mu\text{m}$	(Fang et al., 2020)
Japánszilva	22,1-46,5 $\times 9,2\text{-}13,5 \mu\text{m}$	(Long et al., 2021)
Gerbera	26,3-60,2 $\mu\text{m} \times 12,1\text{-}18,1 \mu\text{m}$	(Bellé et al., 2019)

PDA táptalajon a kórokozó kör alakú és sötét olívazöld telepeket alkot, felületén szürkésfehér légmicéliummal (**Chen et al., 2018**). **Yu et al. (2015)** kutatásuk során PDA lemezeken kezdetben világosszürke színű, majd sötétzöldből feketévé váló tenyészbélyegeket figyeltek meg. Amikor a táptalajt teljesen benőtte a kórokozó az egész tenyészet felülete feketévé vált.

2.9.4. *Ramularia rhei*

A ramulária fajok közül a *Ramularia rhei* az Ascomycota törzsbe a Dothidemyces osztályba, a Mycosphaerellales rendbe és a Mycosphaerellaceae családba tartozik (**Mycobank, 2023**). A kórokozót 1896-ban írta le először Allesch (**Index Fungorum, 2023**).

Ramularia egy fajokban gazdag nemzetség, amely számos fontos kultúrnövény, többek között az árpa, a cukorrépa és az eper terméskieséséért felelős növényi kórokozónak ad otthont (**Videira et al., 2016**).

A kórokozót gyakran tévesen határozzák meg, mert az általa okozott tünet gyakran összetéveszthető az *Ascohyta rhei* tüneteivel. Az *Ascohyta rhei* esetében a levelek felső felületén apró, sárgászöld foltokat figyelhetünk meg, melyek idővel mozaikos megjelenésűvé válnak. A foltok közepe kifehéredik és kihullik (Howard *et al.*, 1996).

A *Ramularia rhei* a levéllemezen és a levélnyélen is okozhat tüneteket. A leveleken kezdetben kis piros pöttyökként jelenik meg. Ezek fokozatosan megnövekednek, és többé-kevésbé kör alakúak lesznek (12. ábra). A nagy foltok színe fehértől a barnáig terjednek, lilás fénnyudvarral (Internet 11).

A levélnyélen később jelentkeznek a tünetek. Először kis foltokként jelennek meg, majd idővel a levélnyel növekedésével megnyúlhatnak. A nagyobbak sárgásbarna színűek, akár 1 cm hosszúságú, besüllyedt elváltozásokat is megfigyelhetünk. Mind a leveleken, mind a száron a foltok közepén fehér konídiumtartó gyepek figyelhetők meg (Howard *et al.*, 1996).

A *Ramularia rhei* által fertőzött leveleken a fokozatos spóratermelés következtében az inokulumszint növekszik, ami a levélnyel foltosodásához vezet, mivel a spórák a levéllemezről a levélnyel felületére mosódnak (Zhao *et al.*, 2005).



12. ábra: *Ramularia rhei* által okozott tünet rebarbara levelén (Forrás: Internet 11)

A *Ramularia rhei* a rebarbara idősebb levelein telel át. Széllel, esővízzel és esetenként a fertőzött gyökérzettel is terjedhetnek. A kórokozó gyorsan terjed, jó fertőzőképességű, tünetei az új levélzeten már 10-14 nap elteltével láthatóak (Howard *et al.*, 1996).

A *Ramularia* fajok hialin konídiumtartókkal és konídiumokkal rendelkeznek (Videira *et al.*, 2016), amelyek 2-3 x 7-35 µm nagyságúak (Howard *et al.*, 1996).

Egy összehasonlító kísérletben *in vitro* körülmények között vizsgálták a *Ramularia rhei* és az *Aschoyia rhei* konídiumainak csírázását, ahol megállapították, hogy a *Ramularia rhei* jobban alkalmazkodik a magasabb hőmérsékletekhez (Zhao *et al.*, 2006).

2.9.5. *Peronospora jaapiana*

A peronoszpóra fajok közül a *Peronospora jaapiana* az Oomycota törzsbe, az Oomycetes osztályba, a Peronosporales rendbe és a Peronosporaceae családba tartozik (Mycobank, 2023). A kórokozót 1910-ben írta le először Magnus (Index fungorum, 2023).

A kórokozó jelenlétét 1903-ban Svájcban, majd az 1980-as években kínai rebarbarán (*Rheum officinale*) az Egyesült Királyság több területén is jelezték (Yorkshire, Nottinghamshire, Norfolk, Worcestershire, Surrey és Hampshire). Az Egyesült Királyságon kívül az USA, Lengyelország és Ausztrália kertjeiben is észlelték a betegséget. További jelentések érkeztek Ázsiából és Európából (Huckle *et al.*, 2016).

A kórokozó földrajzi elterjedését tekintve még megjelent Franciaországban, Dániában, Németországban és Norvégiában is (Francis, 1981).

A *Peronospora jaapiana* egy oligofág kórokozó, melynek gazdanövénykörébe tartozik a *Rheum officinale*, *Rheum palmatum*, *Rheum rhaponticum*, *Rheum undulatum* (*Rheum rhabarbarum*) (Francis, 1981).

A *Peronospora jaapiana* már palánta korban is fertőzhet. A későbbiekben a tüneteket a rebarbara levelein láthatjuk. Kezdetben a levél felső felületén nagy szegletes, sárgás, barnás-vöröses foltokat láthatunk, amelyek elérhetik a 10 millimétert is (Huckle *et al.*, 2016).

A foltokat eleinte erek határolják, de súlyos fertőzöttség esetén az erek megszakadnak, majd a levelek darabokra hullanak. A növények szinte teljesen lombtalanok lehetnek. A kor előrehaladtával a levélfoltok kiszáradnak és végül a levelek pusztulását okozzák (13. ábra) (Francis, 1981).



13. ábra: *Peronospora jaapiana* által okozott tünet rebarbara levelén (Forrás: Internet 12)

A *Peronospora jaapiana* fertőzésének és sporulációjának a hűvös, nedves körülmények kedveznek, a spórák terjedését pedig az esőzés segíti. A járványok ezért a hideg, csapadékos évszakokban súlyosabbak. A légáramlatok, vízfröccsenés vagy az emberekkel és szerszámokkal való érintkezés révén terjednek (**Huckle et al., 2016**).

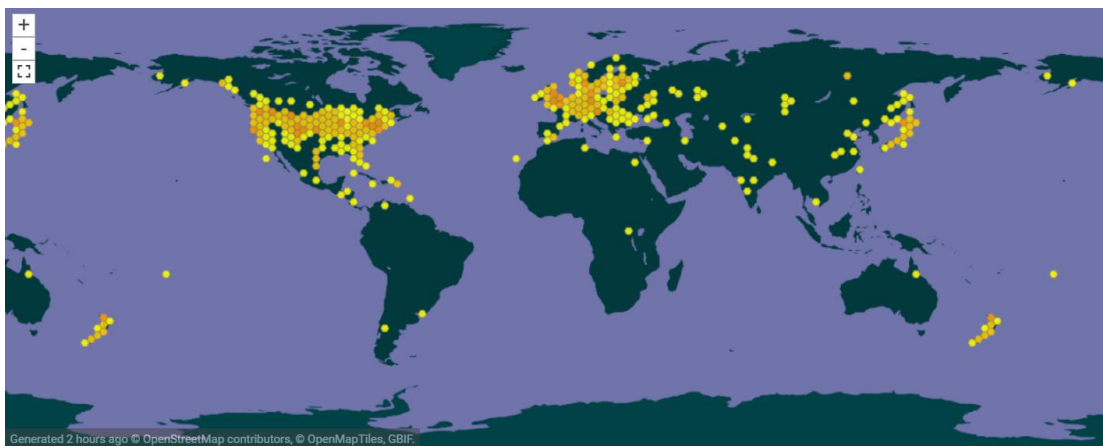
A *Peronospora jaapiana* obligát kórokozó, így a fertőzéshez, a növekedéshez és a sporulációhoz élő gazdanövényre van szükség. A spórák a levelek alsó felületéről, általában a nyitott sztómákon keresztül kikerülő sporangiumtartókon termelődnek. A *Peronospora jaapiana* sporangiumainak élettartama nem ismert. Más rokon fajokról származó információ szerint, ha a páratartalom és hőmérséklet kedvezőtlené válik, akkor a spórák feltehetőleg rövid életűek. A *Peronospora jaapiana* sporangiumai obovoidok, 28-30 x 14-18 µm nagyságúak és halvány lilásbarna színűek (**Huckle et al., 2016**).

Egyes szakirodalmak szerint *Peronospora* fajoknál is képződhetnek vastag falú oospórák, amelyek hosszú ideig túlélnek a növényi maradványokban, de a *Peronospora jaapiana* esetében nem találtak ilyeneket. Jelenleg keveset tudunk arról, hogy hogyan marad fenn az évszakok között, de úgy gondolják, hogy a micélium a szaporító gyökök fiatal hajtásaiban képes fennmaradni. (**Huckle et al., 2016**).

A *Peronospora jaapiana* micéliuma szokatlanul nagy mennyiségű glikogént tartalmaz, ami lehetővé teszi számára, hogy a bomló levélmaradványokban teleljen át (**Huckle et al., 2016**).

2.9.6. *Erysiphe polygoni*

Az *Erysiphe polygoni* az *Ascomycota* törzsbe a *Leotiomyces* osztályba, a *Helotiales* rendbe és az *Erysiphaceae* családba tartozik (Mycobank, 2023). Egyes források szerint az *Erysiphe polygoni* az *Erysiphales* rendben található (Internet 13). A kórokozó széles körben elterjedt a világ minden táján (14. ábra).



14. ábra: *Erysiphe polygoni* földrajzi elterjedése (Forrás: Internet 14)

Az *Erysiphe polygoni* egy obligát parazita, amely széles gazdanövénykörrel rendelkezik. A kórokozó főleg a *Polygoniaceae* és a *Chenopodiaceae* családba tartozó növényeket fertőzi. A kórokozó gazdanövényei közé tartozik a szakirodalom szerint a *Rumex obtusifolius* (réti lórom), amit Koreában azonosítottak egy egyetemi vizsgálat során (Hong et al., 2019).

Délkelet-Ázsiában a kórokozó a *Fabaceae* családba tartozó *Vigna radiata* (mungóbab) legpusztítóbb betegsége (Gawande és Patil, 2003).

A kórokozót Argentínában *Brassica napus* (káposztarepce) (Gaetán és Madia, 2004), Észak-Dakodában *Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* var. *altissima* (cukorrépa) (Bradley et al., 2007), Kínában *Trifolium repens* (fehér here) (Zhang et al., 2022) növényekről írták le.

Az *Erysiphe polygoni* által okozott tünet, hogy a leveleken fehér porszerű, lisztes bevonatú micélium növekedés figyelhető meg. A foltok a betegség előrehaladtával összenőnek, idővel képesek átterjedni az alsóbb levelekre is. A fertőzött levelek színe idővel fokozatosan világoszöldre, sárgára majd végül barnára változik. A teljes növényi rész elhalhat (Howard et al., 1996).

A gomba számos növényfajon több fiziológiai fajban fordul elő. A spórák a terjedés fő eszközei, a szél nagy távolságokra szállítja. A kórokozó kazmotéciumokkal telel, amely késő nyáron alakul ki a fertőzött növények felső levélfelületén, amelyek a tél folyamán életben maradnak. Tavasszal az aszkospórával fertőz (Internet 15).

A betegség kialakulásának kedvez az alacsony relatív páratartalom, a gazdaszervezeten belüli vízstressz és a levélfelület nedvesség, amelyben a spórák kicsírázhatnak.

Görögszéna növényen (*Trigonella foenum-graecum*) azt vizsgálták, hogy a sötétség, a hőmérséklet és a fényviszonyok hogyan hatnak az *Erysiphe polygoni* csírázására. A konídiumok csírázását egy teljes napon át, vagyis 24 órán keresztül 19-23 °C figyelték meg. A vizsgálat során kiderült, hogy a sötétség gátolta, míg a fény pedig serkentette az *Erysiphe polygoni* csírázását. Világos körülmények között a konídiumok csírázása 21°C-on 34%-kal javult. 22°C után a konídiumok csírázása nem növekedett szignifikánsan **(Som és Saharan, 2000)**.

Az *Erysiphe polygoni* olyan micéliumot képez, amely számos hausztóriumot termel, számos, egysejtű konídiumot tartalmaz, amelyek hialin, keskeny ellipszoid vagy hengeres alakúak, és 24-51 x 10-17,5 µm nagyságúak.

A teleomorf állapot egy sötét, teljesen zárt kazmotéciumból áll, amely 4-10 aszkuszt tartalmaz. A tojásdad aszkuszokban négy aszkospórát figyeltek meg, amelyek hialinok vagy aranysárga színűek, méretük 20-25 x 12-20 µm volt **(Bradley et al. 2007)**.

A konídiumok hialinok, alakjuk hosszúkástól a hengeresig változhat. Méretük 30-45 x 15-25 µm. A konídiumok végeiből hosszú, elágazás nélküli csíratömlők képződtek **(Zhang et al. 2022)**.

3. Anyag és módszer

3.1. A vizsgálat helye és ideje

A vizsgálathoz szükséges növényi részeket Kiskőrösön **(15. ábra)** és Kiskőröstől 5 km távolságra lévő Közép-Cebén **(16. ábra)** gyűjtöttem 2022-2023 között. Kiskőrös Bács-Kiskun vármegyében található. A területeken, ahol korábban, mint Kiskőrös környékén mindenhol szőlőtermesztés zajlott, laza homoktalaj található 40-80 cm mélyen agyagos vízzáró réteggel. A csapadék és a hőmérsékleti értékek nagy ingadozást mutatnak éves szinten. Családi gazdaságunk összes területe 10 hektár, melyből 6,5 hektáron szőlőültetvények találhatók és 3,5 hektáron rebarbara termesztéssel foglalkozunk.



15. ábra: Kiskőrösi termesztőterület (Fotó: Varga, 2023)



16. ábra: Közép-Cebéi termesztőterület (Fotó: Varga, 2023)

A kórokozók vizsgálatát, klasszikus és molekuláris módszerekkel történő azonosítását, a patogenitási vizsgálat elvégzését a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Budai Campus, Növényvédelmi Intézet, Növénykórtani Tanszékének laboratóriumában végeztük el.

3.2. A vizsgálatban felhasznált anyagok

3.2.1. Vizsgált izolátumok

A foltbetegséget mutató rebarbara leveléről munkánk során 1 baktérium és 7 gomba tenyészetet tudtunk tiszta tenyészetbe hozni. A felhasznált izolátumok paramétereit a **4. táblázat** foglalja össze.

4. táblázat: Vizsgálatba vont izolátumok paramétereit

Izolátum kód	Növényi rész	Gyűjtés helye	Gyűjtés ideje	Gyűjtötte
R1	Levél	Kiskőrös	2023.05.28	Varga Máté
R1/A	Levél	Kiskőrös	2022. 05.14	Varga Máté
R1/B	Levél	Kiskőrös	2022.05.14	Varga Máté
R2	Levél	Közép-Cebe	2022.05.14	Varga Máté
R3	Levél	Kiskőrös	2022.05.14	Varga Máté
R4	Levél	Közép-Cebe	2022.05.14	Varga Máté
R5	Levél	Közép-Cebe	2022.05.14	Varga Máté
R6	Levél	Kiskőrös	2022.05.14	Varga Máté

3.2.2. A kórokozók tenyésztése, táptalajok

A baktériumok izolálása King-B táptalajon (Biolab Zrt.) történt **(King et al., 1954)**, melynek összetétele: 1,5 g K_2HPO_4 20 g pepton, 10 g glicerol, 1,5 g $MgSO_4 \times 7 H_2O$, 15 g agar, 1 l H_2O . A baktériumot szobahőmérsékleten King-B táptalajon, -20 °C-on és -70 °C-on konzerváló folyadékban tartottuk fent. A konzerváló folyadék komponensei a következők: 3g Beaf extract, 5 g pepton, 20 g glicerol, 1 l H_2O .

A Levan tulajdonságot a LOPAT tesztben 5 %-os szacharózt tartalmazó táptalajon vizsgáltuk, melynek összetétele: 1 l H_2O -hez 23 g nutrient agar, 50 g szacharóz. Az arginin-dihidroláz bontásához használt táptalaj az alábbi komponenseket tartalmazza: 1 l H_2O , 1 g pepton, 5 g NaCl, 0,3 g K_2HPO_4 , 0,010 g fenolvörös, 10g L-Arginin, 3g agar.

A laboratóriumban vizsgált patogén gombák izolálását burgonya dextróz (Potato dextrose agar-PDA, Biolab Zrt.) táptalajon izoláltuk, melynek összetevői 39 g PDA és 1 l steril desztillált víz.

3.2.3. Vizsgáltba vont növények

A növényi mintákat Kiskőrösről és annak külterületén található Közép-Cebéről, saját gazdaságból gyűjtöttem. A vizsgálatba alkalmanként 10-15 levelet gyűjtöttem, melyeken vizsgáltuk a növénypatogén gombák és baktériumok okozta betegségeket.

Dohánynövényt (*Nicotiana tabacum*) használtunk a hiperszenzitív reakció elvégzéséhez. A burgonyarothadás vizsgálatot a LOPAT teszt során burgonyagumón végeztük.

A kísérletben vizsgált rebarbara közül, amely Közép-Cebén található a „Lider Red” fajta, melynek levélnyelének színe zöldes-pirosas. Kiskőrösön található rebarbara a „Victoria” fajta, aminek a levélgyeje pirosas, halvány rózsaszínes színű.

3.2.4. Felhasznált eszközök

A vizsgálataink elvégzéséhez segítségre szolgált a Növénykórtani Tanszék laboratóriumban található fém-, porcelán és műanyag eszközök (bonctű, lándzsátű, dörzsmozsár, tárgylemez, 5 és 7 mm-es dugófűrő, lombik, Eppendorf csövek, oltókacs, szike, mérőpohár, pipetta stb.). A táptalajok kiöntése 905 mm-es műanyag Petri-csészékbe történt, majd a kórokozókat Thermo Scientific MSC 1.2 lamináris fülke alatt oltottuk táptalajra. A kész tenyészeteket Sanyo MLR-351 fitotronban inkubáltuk. A baktérium szuszpenziók sejtszámát spektrofotométer segítségével állítottuk be. Segítségünkre szolgált a fertőzött növényi részek és a szaporítóképletek vizsgálatához egy Leica MZ6 sztereomikroszkóp és egy Nikon Eclipse 50i citoplaszt mikroszkóp. A mikroszkópos felvételeket QImaging MicroPublisher 5.0 RTV kamerával készítettük. A polimeráz láncreakciókat Applied Biosystems 9700 típusú PCR készülékben mentek végbe. Továbbá segítségünkre szolgált egy Minispin Eppendorf asztali centrifuga és egy Univapo és UniEquip 100 ECH vákuum koncentrátor. A kórokozókat idősebb állapotukban hűtőszekrénybe helyeztük és ott tároltuk.

3.3. Vizsgálat módszere

3.3.1. Növényi részek gyűjtése és tárolása

A rebarbara ültetvényről az első fertőzött növényi részeket 2022. tavaszán gyűjtöttük, ami folyamatos volt egészen 2023. júniusáig. A fertőzött leveleket az első tünetet mutató foltok megjelenésekor kezdtük el begyűjteni a rebarbara ültetvényről. A minták gyűjtése és feldolgozása 2-3 hetes időközökkel történt. A mintákat papírzacskóba, feliratozva gyűjtöttem és szállítottam az Egyetem Növénykórtani Tanszék laboratóriumába. A mintákat, hogy megőrizték friss állapotukat általában azonnal vizsgáltuk, vagy 1-2 napra hűtőszekrénybe helyeztük, ahol 4-5 °C hőmérsékletet biztosítottunk.

3.3.2. Tünetek jellemzése

A rebarbara leveleken a kísérő- és főtüneteket szabad szemmel és sztereo mikroszkóppal vizsgáltuk. A vizsgálatunk célja az volt, hogy megfigyeljük a tünetek megjelenésének idejét és a foltok belsejében képződő szaporítóképleteket. Figyeltük, hogy a kórokozók a növény mely részén okoznak tünetet, beleértve a levélnyelet és a levéllemez.

A lisztharmattal és peronoszpórával fertőzött levelek esetében a kórokozók szaporító képleteit vizsgáltuk.

3.3.3. A termesztés módszere

A szaporítás technológiai terv alapján a szaporítótálcákba való magvetést 2020 május II. dekádjában kezdtük, hiszen ekkor kezdtem el foglalkozni a rebarbara termesztésével (**5. táblázat**). A termesztés során felhasznált vetőmagok közül a '*Lider red*' fajta a Szentesimag Kft-től, míg a '*Victoria*' fajta a Royal Sluis Magrovet Kft-től származik. A szaporítótálcákat egy fűtetlen fóliasátorban helyeztem el. Összesen 7392 db mag került vetésre 66 db tálcába. A vetést követően többségében 7 napra jelentek meg a sziklevelek. A palántákat napi kétszer öntöztem, és amikor elérték a 2 hetes, 2-3 leveles fejlettségi állapotot, akkor elkezdtem a tápoldatozását, Omex starter műtrágyával (0,1 % koncentrációban), amely egy palántanevelő tápoldat. Ennek kijuttatása 2-3 naponta történt.

A fejlődő növények szabadföldre való kiültetése július 7-én történt, 6-8 leveles fejlett állapotban. Az 1 m²-ről lekerülő termésmennyiség egy megfelelő tenyészidőben elérheti a 2-3 kg-ot.

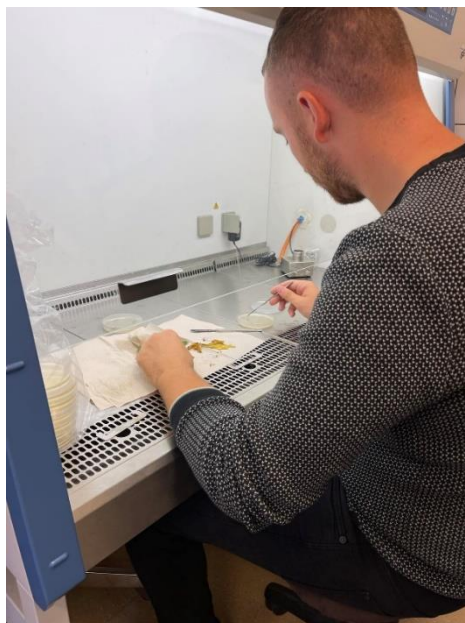
5. táblázat: Szaporítás technológiai terv

Növényfaj	Rebarbara
magvetés ideje	május II. dekádja
helye	fűtetlen fólia sátorba szaporítótálcába május II. dekádja, szabadföldre való kiültetés július
módja	palántanevelés
sor és tőtávolság (m)	szabadföldön 2,4x 0,75
vetőmagszükséglet (db/ha)	7392
kelési arány (%)	68
kiültetett palánta (db)	5026
ezermagtömeg (g)	9-14
tenyésztési idő (nap)	120

3.3.4. Kórokozók izolálása táptalajon

Gombák izolálása

A kórokozókat steril körülmények között, lamináris fülkében izoláltuk. A laboratóriumba behozott fertőzött leveleket sztereo mikroszkóp alatt vizsgáltuk, de szaporító képletek hiánya miatt a leveleket 70%-os etanollal fertőtlenítettük, majd steril vízzel öblítettük és felszárítottuk. Ezt követően az elhalt és egészséges rész határáról apró szövetdarabokat metszettünk ki alkohollal és Bunsen égővel sterilizált lándzsátű segítségével, majd a leemelt növényi részt leoltottuk PDA táptalajra (17. ábra) és Fitotronba helyeztük. Ahhoz, hogy megbizonyosodjunk a tenyészetek állapotáról, 2-3 nap elteltével megvizsgáltuk és a növekedésnek indult tenyészetekből PDA táptalajra helyezve tiszta tenyészetet hoztunk létre, majd az így átvett tenyészeteket ismét Fitotronba helyeztük, addig az állapotig, amíg a kórokozó micéliuma teljesen be nem nőtte a Petri-csészét. A tenyészeteket, annak érdekében, hogy a későbbiekben is tudjunk velük dolgozni 4-5 hetente átvettük, ami úgy történt, hogy a benőtt tenyészetek széléből dugófúróval micélium korongokat helyeztünk steril táptalajra.



17. ábra: Növényi rész PDA táptalajra való leoltása (Fotó: Pecze, 2022)

Baktériumok izolálása

A tüneteket mutató leveleket 70%-os alkohollal lefertőtlenítettük. Az elhalt és egészséges rész határáról sterilizált szike segítségével mintát vettünk, majd a növényi szövetrészeket steril desztillált vízzel homogenizáltuk és steril fülkében szélesztettük King-B táptalajon **(18. ábra)**. A Petri-csészéket 26 °C-on 1-2 napon keresztül inkubáltuk. Pár nap elteltével a Petri-csészén megjelenő különálló kolóniákat ismét táptalajra oltottuk. Ezekből hoztuk létre a tiszta tenyészeteket, melyeket a későbbiekben azonosítottunk. Fenntartásuk érdekében 2-4 hetente átoltottuk tiszta táptalajra.



18. ábra: Növényi minták homogenizálása és szélesztése steril táptalajra (Fotó: Varga, 2023)

A morfológiai vizsgálatok – a szaporító képletek és, tenyészbélyegek jellemzése

A lisztharmattal és peronoszpórával fertőzött levélmintákon található kazmotéciumok és sporangiumtartók valamint sporangiumok morfológiáját vizsgáltuk. Először sztereomikroszkóp alatt figyeltük meg és fotókat készítettünk. Ezt követően a szaporító képleteket leemeltük a levelek felületéről és tárgylemezre helyeztük, majd ezt vizsgáltuk citoplaszt mikroszkóppal. A képletekről különböző nagyításban fényképeket készítettünk. Lemértük a kazmotéciumok átmérőjét, megszámloltuk a függelékek számát, lementük a hosszúságukat. A sporangiumok esetében azok átmérőjét és hosszát, valamint a tartók hosszát mértük meg. Ezekből az adatokból, illetve a gazdanövényből határoztuk meg a kórokozókat.

A tiszta tenyészetek esetében vizsgáltuk az általános morfológiai jellemzőket: a tenyészetek alakját, színét, mintázottságát, felszínét és a szaporító képletek képződését.

3.3.5. Növénypatogén baktériumokra irányuló vizsgálati módszerek

Baktérium szuszpenzió előállítása

A baktérium szuszpenziót, amelyet a vizsgálatok alatt felhasználtunk 24 órás, 26 °C-on inkubált, tiszta tenyészetből állítottuk elő. A szuszpenziót spektrofotométerrel 5×10^{-8} sejt/ml töménységűre állítottuk be, 540 nm-en, melyet desztillált vízzel kalibráltunk.

Gram tulajdonság vizsgálata

A baktérium izolátum 24 órás tiszta tenyészetéből egy-egy kolóniát kijelöltünk, majd fogpiszkáló segítségével tárgylemezre emeltük, melyre 3%-os KOH oldatot csepegtettünk, majd homogenizáltuk. Abban az esetben, ha a KOH oldat feloldotta a kórokozó sejtfalát és nyúlós állagú elegyet kaptunk, akkor Gram-negatív baktériumról beszélhetünk. Abban az esetben, ha a KOH oldat nem oldotta fel a kórokozó sejtfalát, és nem kapunk nyúlós állagú elegyet, akkor Gram-pozitív baktériumról beszélhetünk.

LOPAT teszt

A *Pseudomonas* fajok, alfajok és patotípusok közötti különbségek kimutatására alkalmazzuk a LOPAT tesztet, ami öt különböző vizsgálatból áll (Levan termelés, Oxidáz aktivitás, burgonya (Potato) rothadási képessége, az Arginin-dihidroláz előállítása és a dohánynövényen (Tobacco) végzett hyperszenzitív reakció vizsgálat) (Lelliott *et al.*, 1966).

A Levan teszt során a baktériumot 26° C-on 48 órán keresztül inkubáltuk 5 %-os cukor tartalmú táptalajon. Akkor tekinthető pozitívnak a teszt, ha csillogó, fehér és kidomborodó kolóniák növekednek.

Az Oxidáz tulajdonság meghatározásához oxidáz tesztsíkot használtunk, melyet a Biolab Zrt. forgalmazott. Fogpiszkáló segítségével friss baktérium tenyészetből kentünk rá a tesztsíkra, majd 1-2 perc után értékeltük a bekövetkező színreakciót. Pozitív színreakció esetén rózsaszín-lilás színváltozás figyelhető meg, negatív reakció során nincs színváltozás, esetenként krémszínű elváltozást láthatunk.

A burgonya (Potato) rothadási képességet vizsgálva, a megmosott és etilalkohollal lefertőtlenített burgonya gumókat szeletekre vágtuk, és steril Petri-csészébe helyeztük, majd fogpiszkáló segítségével baktérium kolóniákkal fertőztük meg. Kontroll esetében a fogpiszkálót steril desztillált vízbe mártottuk, és úgy fertőztük meg a gumót. A megfertőzött burgonya szeleteket 90%-os relatív páratartalom mellett 26°C-on 7 napig inkubáltuk. Akkor tekinthető sikeresnek és pozitívnak a teszt, ha a szúrás helyén és környékén a burgonyaszelet rothadásnak indul.

Az arginin-dihidroláz táptalajból steril kémcsőbe öntöttünk 4 ml-t. Szilárdítás után a baktériumtenyészetből kolóniákat juttatunk a táptalajba, majd paraffinolajjal lezártuk és 5 napig 26°C-on inkubáltuk. Pozitív eredményről beszélhetünk, ha a táptalaj elszíneződése narancsszínű lesz.

A hiperszenzitív reakció vizsgálatához baktérium szuszpenziót használtunk, melynek töménysége 5×10^8 sejt/ml volt. Az oldatot dohánynövény (*Nicotiana tabacum*) levélszövetébe juttatuk fecskendő segítségével. A tesztet 24 és 48 óra elteltével értékeltük a kialakult nekrosis alapján.

3.3.6. Patogenitási teszt

Izolált gombák esetében alkalmazott módszer

A patogenitási tesztet annak igazolására végeztük, hogy megfigyeljük, hogy az izolált kórokozó valóban képes-e fertőzni a növényeinket. A teszt elvégzése első sorban a levelek fertőtlenítésével kezdődött. A leveleket 70%-os etanolba helyeztük 2-3 percre, majd áthelyeztük steril desztillált vízbe steril csipesz segítségével ismét 2-3 percre **(19. ábra)**. A levelek felületéről a nedvességet lamináris fülkében szárítottuk fel.



19. ábra: Levelek fertőtlenítése (Fotó: Varga, 2022)

A leveleket steril csíráztató üvegedényekben lévő üveggyöngyökre helyeztük, majd a kórokozó tenyészeiből 5 mm-es micélium korongokat helyeztünk a levelekre (**20. ábra**). Patogenitási teszt szempontjából 2 csíráztató üvegedényt használtunk. Az egyikben a korongokat a levelek ép felszínére helyeztük, a másikban a levelek epidermiszét megsebeztük, és arra helyeztük a micélium korongokat. Kontroll vizsgálatot is elvégeztünk, melyben az egészséges levelekre steril PDA táptalaj korongokat helyeztünk. A leveleket 4-6 napon keresztül természetes fényviszonyok mellett, szobahőmérsékletnek megfelelő 25-26 °C-on inkubáltuk. A patogenitási teszt akkor tekinthető sikeresnek, ha megfelelt a Koch-féle posztulátumoknak.



20. ábra: Micélium korongok levélre való helyezése (Fotó: Varga, 2022)

Izolált baktérium esetében alkalmazott módszer

A vizsgálatot steril körülmények között végeztük el és a patogenitási teszt elvégzéséhez rebarbara leveleket használtunk. Patogenitási tesztet annak érdekében végeztünk, hogy megnézzük, hogy az izolált kórokozó valóban fertőzi-e a rebarbara leveleket. A beteg levelekről izolált tiszta tenyészetből fertőztük a leveleket. A leveleket fogpiszkáló segítségével,

injektálással és ecsettel több helyen megsértettük a sikeres fertőzés érdekében (21. ábra). Vizsgáltuk, hogy melyik esetben lesz sikeres a fertőzésünk. A kontrollként használt rebarbara leveleket steril, desztillált vízbe mártott fogpiszkálóval, injektálással és ecsettel sértettük meg. A megfertőzött és kontroll leveleket steril műanyag dobozba és steril üvegedénybe, nedves körülmények közé helyeztük, majd 7 nap elteltével vizsgáltuk a kialakult elváltozásokat, hogy képesek-e a rebarbarát fertőzni, és az eredetileg megfigyelt tünetek kialakulnak-e a mesterségesen fertőzött növényen is.



21. ábra: Egészséges levelek mesterséges fertőzése (Fotó: Karacs-Végh, 2023)

3.3.7. Molekuláris vizsgálat

A molekuláris vizsgálatok során feladataink közé tartozott a gombák esetében az örökítőanyag kivonása a kórokozó tiszta tenyészetéből, valamint minden izolált kórokozó esetében a PCR vizsgálat és a nukleotid szekvencia meghatározása. A baktérium esetében a 24 órás tiszta tenyészetből baktériumszuszpenziót készítettünk és azt használtuk a PCR elegyhez.

Örökítőanyag kivonása az izolált gomba tiszta tenyészetéből

A kórokozó 6-10 napos tiszta tenyészeiből DNS-t nyertünk ki, hogy elvégezzük a molekuláris vizsgálatokat. Lamináris fülkében micéliumot emeltünk le a kórokozó tenyészeiből, majd dörzsmozsárban kvarchomok segítségével eldörzsöltük. 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, és tovább homogenizáltuk a mintákat. A keletkező elegyet Eppendorf-csövekbe töltöttük, majd asztali termosztát segítségével 65 °C-on 30 percig inkubáltuk. Az Eppendorf-csövekbe szerves oldószert (700 µl izoamilalkoholos-kloroformot) pipettáztunk, majd vortex segítségével összekevertük, majd 10 percig asztali centrifugával centrifugáltuk, így eltávolítva a szennyeződéseket és egyéb anyagokat.

Az Eppendorf-csövek felső részén keletkező, puffert tartalmazó vizes fázist tiszta Eppendorf-csövekbe pipettáztuk át, majd hozzáadtunk 500 µl izoamilalkoholos-kloroformot, ami után a mintákat ismét vortexeltük és 10 percig centrifugáltuk. Az így keletkező felső fázist ismét tiszta Eppendorf-csövekbe pipettáztuk át, és hozzáadtunk 600 µl izopropanolt a nukleinsavak denaturálásának érdekében, majd 5 percig centrifugáltuk. A centrifugálás után a felülúszót leöntöttük, majd a pelletet 5 perces centrifugálás során 70 %-os etanollal mostuk.

Végül az etanolt leöntöttük és a pelletet 10 percig szárítottuk vákuum szárítóban, majd ezt követően 20 µl RNase-t tartalmazó TE-oldatban oldottuk vissza. A kivont örökítőanyag tárolása mélyhűtőben történt – 20 °C-on.

PCR (Polimeráz-láncreakció, polymerase chain reaction) vizsgálat

A molekuláris vizsgálatokhoz PCR módszert alkalmaztunk minden vizsgált izolátum esetében. A PCR-t Mastercycler Eppendorf flexlid típusú PCR készülékben végeztük.

A gombák esetében ITS1 és ITS4 primerpárok felhasználásával. ITS1 primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG -3', ITS4 primer: 5'- TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' (**White et al., 1990**). A vizsgálatához az alábbiakat 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 ITS1, ITS4 primer (20 pmol/µl), 4 µl DNS és 12 µl steril víz.

Egy ciklus három lépésből tevődött össze a polimeráz-láncreakció során: Az első lépés a denaturáció, a hidrogén hidak felszakítása, ami 94 °C-on 30 mp-ig tartott, a második lépés az anelláció, az indítószekvenciák kötődése, ami 55 °C-on 30 mp-ig tartott és végül az elongáció, a lánchosszabbítás, ami 72 °-on 120 mp-ig tartott. Az elsődleges denaturációt (94 °C, 5 perc) 35 ciklus követte. A reakció a befejező lánchosszabbítással (72 °C, 10 perc) zárult.

A baktériumok esetében a 16S rRNS génre (**Clarridge, 2004**) specifikus 63F (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3') és 1389R (5'-ACGGGCGGTGTGTACAAG-3') primereket, valamint a *Pseudomonas marginalis* rpoB génre specifikus F3 (5'-CAATCGAAACGCCGGAAGGC-3') és R4 (5'-GCGGACGCTGGTTGATGCAA-3') (**Sawada et al., 2022**) primereket használtuk.

A PCR reakció a 16 S rRNS gén esetében: 94 C-on 5 perces elődenaturálással kezdődött. Majd 94 °C-on 15 másodperces denaturálás, 55 °C-on 30 másodperces primer kötődés, 72 °C-on 90 másodperces lánchosszabbítás következett, amik 35-ször játszódtak le. A PCR reakció 72 °C-on 10 perces lánchosszabbítással zárult.

A PCR reakció az *rpoB* gén esetében: 95 °C-on 2 perces elődenaturálással kezdődött. Majd 95 °C-on 30 másodperces denaturálás, 68 °C-on 30 másodperces primer kötődés, 72 °C-on 60 másodperces lánchosszabbítás következett, amik 40-szer játszódtak le. A PCR reakció 70 °C-on 7 perces lánchosszabbítással zárult (Sawada *et al.*, 2022).

A PCR reakció összetevői 25 µl végtérfogatra a következők: 10 µl H₂O, 12,5 µl Master mix, 0,5 µl Forward primer, 0,5 µl Reverz primer, 1,5 µl DNS (baktériumszuszpenzió).

Gélelektroforézis

A PCR termékeket ECOSafe (Biocenter) festék hozzáadásával készített 1%-os agaróz gélen futtattuk, melyet vízszintes mini elektroforézis készülékben választottuk el készülékben (140 V, 90 mA) 1 %-os TBE pufferben (12,11 g Tris; 5,135 g bórsav; 0,372 g EDTA; 1000 ml desztillált vízben). A méréshez 1 kb-os GeneRuler létrát használtunk. A nukleinsav frakciókat UV fényben olvastuk le.

PCR termék tisztítás és szekvencianalízis

Az amplifikációt követően a termékét a High Pure PCR Product Purification Kit segítségével tisztítottuk a gyártó utasításai szerint. A tisztított PCR termékek koncentrációját NanoDrop 2000c spektrofotométerrel mértük, majd Gödöllőre a Biomi Kft-hez küldtük direkt szekvencia meghatározásra. A szekvenciák elemzéséhez és összeillesztéséhez a CLC Genomics workbench 6.8.1. (CLC Bio A/S, Cambridge, MA) software csomagot és NCBI Genbank adatbázisát és BLAST programját használtuk.

4. Eredmények

4.1. Növénypatogén baktériummal végzett vizsgálatok eredményei

4.1.1. Kórokozó izolálása

2023-ban, a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Növénykórtani laboratóriumába behozott levélmintákon baktériumokra jellemző vizenyős, rothadó, majd nekrotizálódó, barnuló foltokat tapasztaltunk, ezért feltételeztük a levelek baktériummal történő fertőzését (**22. ábra**). A kísérletben táptalajra helyeztünk élő és elhalt határrészt tartalmazó növényi darabokat és homogenizált elegyet is. Az izolálás során jelentősen kevert tenyészeteket nem tapasztaltunk, mindegyik Petri-csészében nagyon egységes kolóniák nőttek fel, melyből tiszta tenyészetet hoztunk létre, és így vizsgálatainkban csak egy izolátumot (R1) azonosítottuk klasszikus és molekuláris módszerekkel.



22. ábra: Tünetet mutató rebarbara levél (Fotó: Varga, 2023)

4.1.2. Tenyészbélyeg jellemzése

A vizenyős levélből izolált növénypatogén baktérium (R1 izolátum) King-B táptalajon jól tenyészthető volt. A táptalajon képződő kolóniák aprók, ép szélűek, kicsit kidomborodóak, sima felületűek, fehéres sárgás színűek voltak (**23. ábra**). Mikroszkóp alatt vizsgálva mozgékonyak voltak. A baktériumok fluoreszcens pigmentet nem termeltek.



23. ábra: Az R1 izolátum tenyészbélyege King-B táptalajon (Fotó: Varga, 2023)

4.1.3. Gram tulajdonság

A Gram tulajdonság elvégzése során az R1 izolátum 3%-os kálium-hidroxid oldattal összekeverve nyúlóssá vált, a sejtfa feloldódott, KOH pozitív, tehát az általunk izolált baktérium Gram-negatívnak tekinthető.

4.1.4. LOPAT teszt

A LOPAT teszt elvégzése során az R1 izolátum eltérő eredményeket mutatott. Az izolátumunk dohány növényen hiperszenzitív reakciót adott, Levan- és oxidáz aktivitása pozitív, valamint a burgonya rothadási képessége is pozitív, mivel okozott elváltozást, rothadást burgonya szeleteken. Az arginin-dihidroláz előállítás szempontjából izolátumunk negatív tulajdonságú (6. táblázat).

6. táblázat: LOPAT teszt eredményei

Vizsgált izolátum/ Vizsgált reakciók	Levan termelés (L)	Oxidáz aktivitás (O)	Burgonya rothadási képessége (P)	Arginin-dihidroláz (A)	Hiperszenzitív reakció (T)
					
R1 izolátum eredménye	+	+	+	-	+

4.1.5. Patogenitási teszt

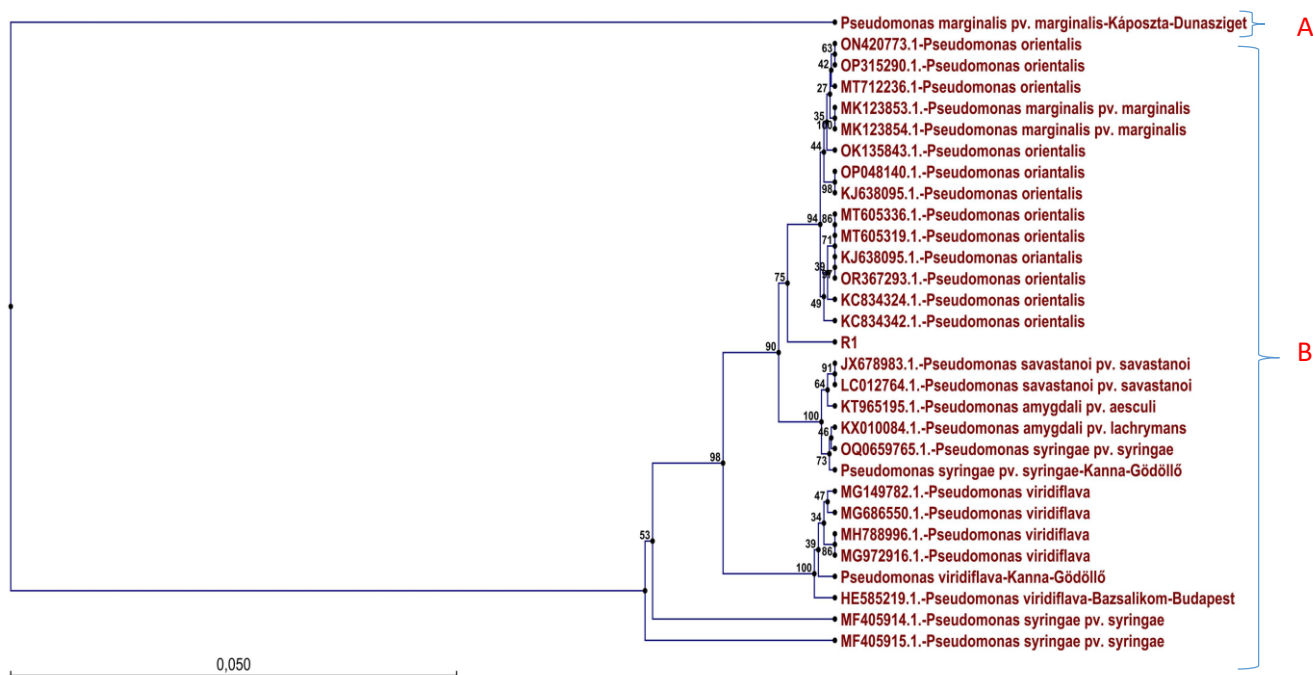
A rebarbara leveléről izolált baktérium izolátum (R1) esetében sikeres volt a patogenitási vizsgálat, mivel a fertőzött növényi részeken kezdetben kisebb sárguló, nagyon vizenyős majd később egyre nagyobb barnuló, elhaló foltok jelentek meg (**24. ábra**). A fertőzés után 1 héttel a levelek sárgultak, majd nekrotizálódtak. A mesterségesen fertőzött levelekről visszaizoláltuk a kórokozót, és igazoltuk a Koch posztulátumokat. A kontroll levelek esetében elváltozásokat nem tapasztaltunk.



24. ábra: A patogenitási teszt eredménye a fertőzés követő 7. napon (Fotó: Varga, 2023)

4.1.6. Kórokozó azonosítása molekuláris módszerrel

A rebarbara levelén vizenyő foltokat, sárgulást és elhalást okozó kórokozó (R1 izolátum) 16S rRNS gén molekuláris vizsgálata során ~1300 bázispár hosszúságú termékeket tudtunk a specifikus primerek segítségével kiemelni. Az izolátumok részlegesen meghatározott 16S rRNS szekvenciáit összehasonlítottuk a nemzetközi adatbázisban (NCBI Genbank) található különböző 16S rRNS szekvenciákkal. A szekvencia analízis alapján izolátumunk (R1) 97,16-97,25 % azonosságot mutat, más *Pseudomonas orientalis* izolátumokkal. A rendelkezésre álló szekvenciák alapján filogenetikai törzsfákat készítettünk (**25. ábra**).



25. ábra: Izolátumok filogenetikai törzsfája a 16S rRNS gén szekvenciák alapján, génbanki izolátumokkal. Saját izolátum rebarbaráról: R1. A törzsfá UPGMA módszerrel készült

Magyarázat: A vízszintes vonalak az izolátumok egymástól való genetikai távolságát mutatják, míg a függőleges vonalak az izolátumok genetikai azonosságát jelzik az elágazásokig, ahol a feltüntetett számok a bootstrapanalízis eredményeit mutatják, 1000 mintavétel esetén, mutatva a törzsfá megbízhatóságát. A törzsfá alatti skála 50 bázisváltozást mutat 1000 bázisonként.

A törzsfá két ágra osztható (A, B). Az A ágon csak egy hazánkban káposztafélék csíranövényeiből izolált *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* helyezkedik el, mely a legtávolabbi rokonságot mutatja a rebarbaráról izolált R1- es izolátummal.

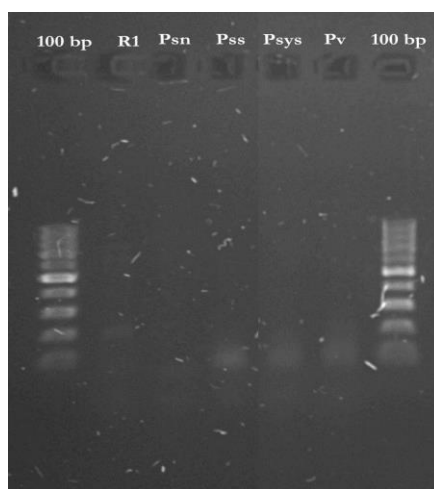
A B ágon jól *elkülöníthető* csoportot alkotnak az egyes jelentős gazdasági kárt okozó *Pseudomonas* fajok. A B ágon külön csoportokat alkotnak: *Pseudomonas viridiflava*, *Pseudomonas orientalis*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* fajok.

Izolátumunk (R1) legközelebbi rokonságot *Pseudomonas orientalis* és két *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* izolátumokkal mutatja, mivel egy ágon helyezkednek el. A rebarbaráról származó izolátumunk (R1) a legközelebbi rokonságot a rizoszférából izolált *Pseudomonas orientalis* (KC834342.1, KC834324.1) izolátumokkal mutatja.

A 16S rRNS gén mellett vizsgáltuk a *P. marginalis* fajra specifikus *rpoB* gént is mivel izolátumunk nemcsak a *P. orientalis*, hanem a *P. marginalis* fajokkal is mutatott közeli rokonságot. Az *rpoB* gén esetében a specifikus primerekkel ~630 bázispár hosszúságú terméket

kellene felszaporítani. PCR termék nem volt megfigyelhető sem a rebarbaráról izolált mintánk esetében, sem a többi vizsgált *Pseudomonas* faj esetében sem, mely igazolta, hogy a vizsgált izolátumaink nem *Pseudomonas marginalis* faj (**26. ábra**).

A 16S rRNS és a *Pseudomonas marginalis* fajra specifikus *rpoB* génszakasz molekuláris vizsgálata alapján a rebarbaráról izolált baktériumfajt (R1 izolátum) *Pseudomonas orientalis*-fajként határoztuk meg. Azonban további vizsgálatok mindenképpen indokoltak, mivel izolátumunk, csak 97%-os hasonlóságot mutat a *P. orientalis* fajjal és külön ágon helyezkedik el a törzsfán, mely akár új faj jelenlétére is utal, így további vizsgálatok szükségesek, mint zsírsavanalízis, DNS hibridizáció, ennek igazolására.



26. ábra: *Pseudomonas marginalis* fajra specifikus *rpoB* génszakasz PCR termékeinek ellenőrzése 1%-os agaróz gélben

(M-marker, 100 bp; R1-saját izolátumunk; Psn: *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii*; Pss: *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*; Psys: *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*; Pv: *Pseudomonas viridiflava*)

4.2. Növénypatogén gombákkal végzett vizsgálatok eredményei

4.2.1. A 2022-es mintagyűjtés eredményei

A 2022-es mintagyűjtést Kiskőrösön végeztem el. Az állományban többféle foltbetegség fordult elő. Tanulmányozva az irodalmi forrásokat 3 kórokozót tartottunk felelősnek a tünetek kialakulásáért: *Alternaria alternata*, *Ramularia rhei* és *Ascochyta rhei*. A kórokozókat táptalajon izoláltuk és 7 tiszta tenyészetet (R1/A, R1/B, R2, R3, R4, R5, R6-os izolátumok) hoztunk létre. Két esetben (R1/A, R1/B) az izolált kórokozók nem bizonyultak patogénnek, így ezekkel az izolátumokkal a későbbiekben nem foglalkoztunk.

4.2.1.1 *Alternaria alternata*

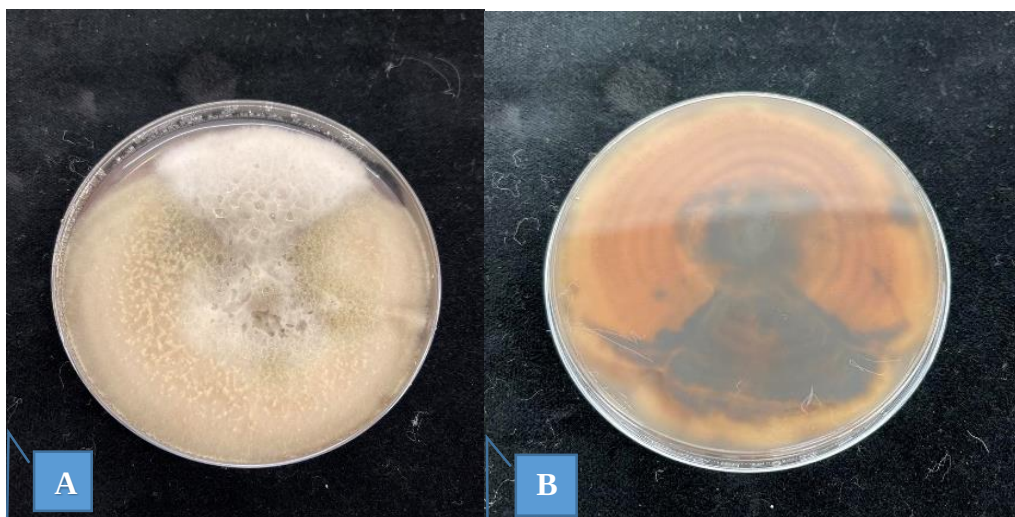
Az *Alternaria alternata* tüneteire a tenyészedőszakban, július környékén figyeltem fel. A rebarbara levelein az *Alternaria* fajokra jellemző nagyméretű (1,5-2,5 cm) kezdetben barna, koncentrikus foltokat láttunk, majd idővel a foltok nekrotizálódtak, elfeketedtek (**27. ábra**). Az adott növényről mintát gyűjtöttem, és a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Növénykórtani Tanszék laboratóriumában a tünetet mutató leveleket sztereo mikroszkóp alatt vizsgáltuk. A foltokban szaporító képleteket nem figyeltünk meg, így a leveleket fertőtlenítettük és növényi részeket helyeztünk PDA táptalajra.



27. ábra: Az *Alternaria alternata* okozta tünet a rebarbara levelén (Fotó: Varga, 2022)

Tenyészbélyegek jellemzése:

A kórokozót sikeresen tenyésztettük PDA táptalajon. A tenyészetek többnyire szabályos kör alakúak, ép szélűek, barna színűek voltak. A tenyészet színi oldalán szürkésfehér micéliumot, míg a tenyészet fonáki oldalán az alternáriára jellemző koncentrikus mintázottságot figyeltünk meg (**28. ábra**). A tenyészet átlagosan 11 nap alatt nőtt be a táptalajt.



28. ábra: *Alternaria alternata* (R5 izolátum) tenyészbélyege: A: színi oldal, B: fonáki oldal (Fotó: Varga, 2022)

Patogenitási vizsgálat eredménye:

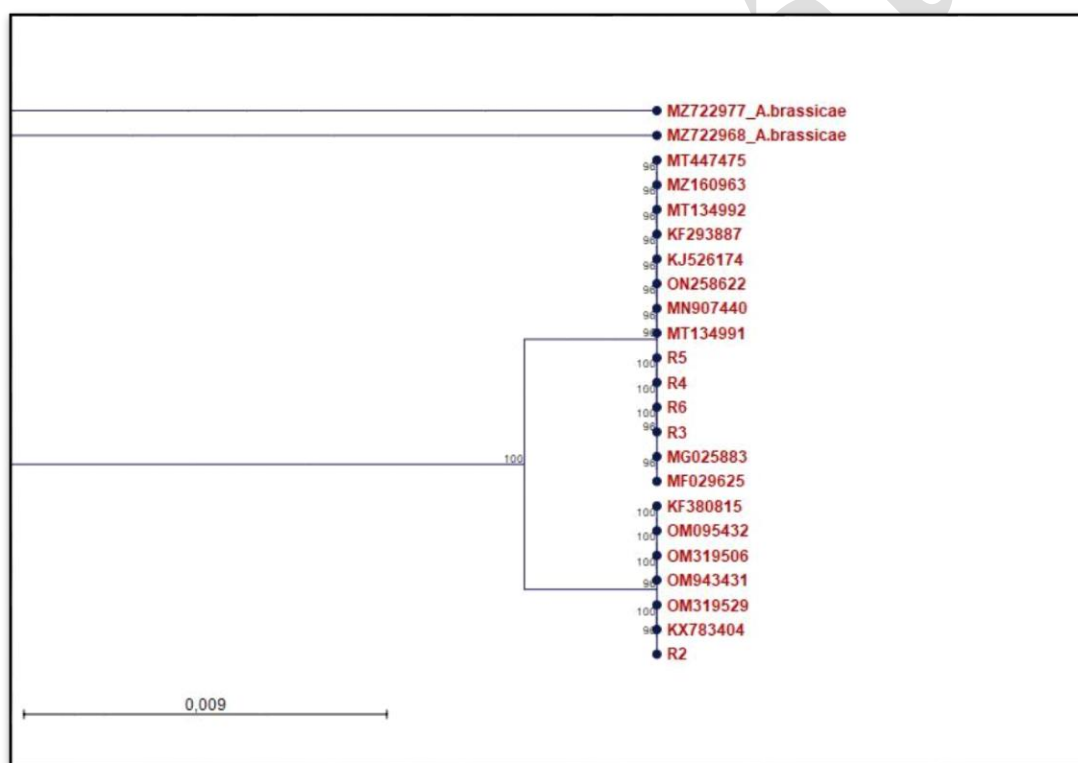
Az inokulált rebarbara leveleken a fertőzést követő 7-8. napon jól látható elhalás volt megfigyelhető. 10 nap elteltével a kórokozóra jellemző szürkés-barna micélium is növekedésnek indult (**29. ábra**). A kórokozót sikeresen újraizoláltuk PDA táptalajon a fertőzött rebarbara levél szöveteiből, így sikeresen alátámasztottuk a kórokozó megbetegítőképességét a Koch posztulátumokat követve.



29. ábra: A patogenitási teszt eredménye (Fotó: Varga, 2022)

Azonosítás az ITS régió alapján:

A molekuláris vizsgálat során sikeresen vontunk ki össznukleinsavat a kórokozók tiszta tenyészeiből (R2, R3, R4, R5, R6-os izolátumok). Az ITS régió vizsgálata során az ITS1 és ITS4 univerzális primerekkel kb. 600 bázispár hosszúságú termékeket amplifikáltunk a polimeráz láncreakció során. A nukleotid sorrend meghatározását követően, saját izolátumaink 520 bp hosszúságú szakaszát összehasonlítva a nemzetközi adatbázis szekvenciáival megállapítottuk, hogy az általunk izolált kórokozók az *Alternaria alternata* gombafajjal azonosíthatók. Összegyűjtve az adatbázisból a gomba külföldi izolátumainak szekvenciáit ebből a régióból - és összevetve a saját izolátumaink nukleotid sorrendjével - megállapítottuk, hogy izolátumaink a vizsgált szakaszon homológok a kórokozó külföldről közölt izolátumainak szekvenciáival (30. ábra).



30. ábra: Az *Alternaria alternata* izolátumok dendrogramja az ITS régió szekvenciárészlete alapján

Magyarázat a 30. ábrához: Az izolátumokat a dendrogramon az NCBI adatbázis hivatkozási számaival tüntettük fel. Csoporton kívüli tagként két *Alternaria brassicae* izolátum szekvenciáját használtuk fel az elemzés során. 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 9 bázis eltérést jelöl 100 bázisonként.

4.2.1.2 *Ramularia rhei*

A *Ramularia rhei* tüneteire az állományban már májusban felfigyeltem, és egészen októberig észlelhetőek voltak a tünetek kisebb nagyobb mértékben. Azért is volt érdekes számomra, hiszen az első tünetek megjelenése egy időbe esett a rebarbara első szedésével. A kezdeti tünetek májusban még elenyészőek voltak. A júniusi időszakban a tünetek már jobban látszódtak.

A tünetek a felsőbb, érett leveleken jelentek meg először, a növények fiatal lombleveles állapotában a kórokozó nem volt jelen. A leveleken a tünet először apró piros foltként jelentkezett, majd fokozatosan növekedett és a foltokat lilás fényudvar vette körbe (**31. ábra**). A foltokat méretük és alakjuk alapján szabad szemmel nehéz elkülöníteni az *Ascochyta rhei* tüneteitől. A kórokozót úgy lehet elkülöníteni, hogy az *Ascochyta rhei* esetében nem jelenik meg lilás fényudvar, és a levélnyélén sem okoz tüneteket.

A foltok a rebarbara állományban megmérve, átlagosan 0,6-0,8 mm nagyságúak és szabálytalan alakúak.



31. ábra: A *Ramularia rhei* okozta tünetek a rebarbara levelén (Fotó: Varga, 2022)

4.2.2. A 2023-as mintagyűjtés eredményei

A 2023-as mintagyűjtést Kiskőrösön és Kiskőröstől 5 km távolságra lévő Közép-Cebén végeztem el. Ebben az évben a foltbetegségeken túl lisztharmatos és peronoszpórás tüneteket figyeltem meg. Ezek a kórokozók táptalajon nem tenyészthetők, így az alábbiakban morfológiai tulajdonságaikat mutatom be.

4.2.2.1 *Peronospora jaapiana*

A *Peronospora jaapiana* tüneteire az állományban már május végén felfigyeltem, és egészen októberig észlelhetőek voltak a tünetek kisebb nagyobb mértékben. A kezdeti tünetek még elenyészőek voltak, de június közepére robbanásszerűen fertőződött az állomány. A tünetek kezdetben az idősebb, érett levelek színén kialakuló, erek által határolt, szabálytalan alakú nagyobb méretű szegletes barnás-vöröses foltként jelentek meg. A foltok idővel beszáradtak, összefolytak és kirepedeztek. A fonákon látható volt a szürkés színű sporangiumtartó gyp (32. ábra). A foltok mérete átlagosan elérte a 3,5-4,2 cm nagyságot.

Az adott növényről mintát gyűjtöttem, és a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Növénykórtani Tanszék laboratóriumában mikroszkóp alatt vizsgáltuk a szaporítóképleteket.



32. ábra: A *Peronospora jaapiana* okozta tünetek a rebarbara levelén (Fotó: Varga, 2023)

Laboratóriumban lemértem a sporangiumok, sporangiumtartók és szterigmák méreteit, majd átlagoltam az eredményeket, amit a **7. táblázat** mutat be. A sporangiumok kissé megnyúlt, tojásdad alakúak voltak. A hosszúkás, legtöbb esetben kétfelé elágazó sporangiumtartó végén átlagosan két szterigma helyezkedett el (**33. ábra**).

7. táblázat: A *Peronospora jaapiana* morfológiai bélyegeinek mérettartományai

Sporangiumok mérete (µm)	Sporangiumtartó mérete (µm)	Szterigmák (µm)
24-32 x 13-17	188,5	7,2



33. ábra: A *Peronospora jaapiana* sporangiumtartója és sporangiumai 400X-os nagyításon (Fotó: Varga, 2023)

4.2.2.2 *Erysiphe polygoni*

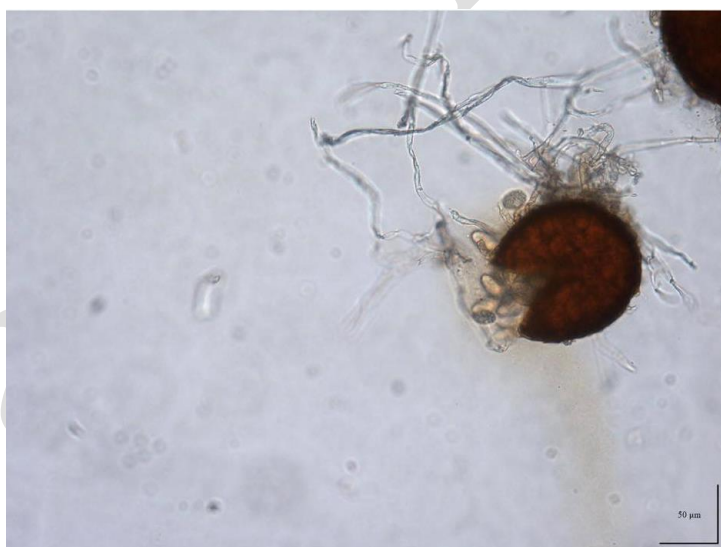
A tenyészdőszak végén figyeltem fel lisztharmat okozta tünetekre, szeptember-október környékén. A rebarbara állományban a lisztharmatra utaló tüneteket a „Victoria” fajtán figyeltem meg. A felső leveleken kezdetben foltszerűen jelent meg a tünet, majd idővel az egész levéllemezt beborította a fehéres, lisztes bevonat (**34. ábra**), amelybe ágyazottan kazmotéciumok is képződtek. Idővel a levelek sárgultak és barnultak.

Az adott növényről mintát gyűjtöttem, és a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Növénykórtani Tanszék laboratóriumában a kórokozó szaporítóképleteit vizsgáltuk mikroszkóp alatt.

A kazmotéciumok megnyúltabb, gömb alakúak, világosbarna színűek voltak (35. ábra), átlagos méretük $144,25\ \mu\text{m} \times 132,25\ \mu\text{m}$ volt. Alapi elhelyezkedésű függelékeket figyeltünk meg, amelyek átlagosan $96,65\ \mu\text{m}$ hosszúak voltak. A felnyíló kazmotéciumokban átlagosan 4-6 aszkuszt figyeltünk meg.



34. ábra: Az *Erysiphe polygoni* okozta tünetek a rebarbara levelén (Fotó: Varga, 2023)



35. ábra: Az *Erysiphe polygoni* kazmotéciuma 200X-os nagyításon (Fotó: Varga, 2023)

5. Következtetés

2022-2023-ban a rebarbara (*Rheum rhabarbarum*) növényen vizsgáltuk a növénypatogén kórokozók okozta betegségek megjelenését és kártételét a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Budai Campus, Növényvédelmi Intézet, Növénykórtani Tanszék laboratóriumában. **Howard et al. (1996)** által leírt szakirodalomban az *Agrobacterium tumefaciens* (baktériumos gyökérgolyva) és az *Erwinia rhapontici* (vörös levél, bakteriális lágyrothadás) is előfordulhat a rebarbarán, mint baktériumos betegségek, valamint gombás betegségek közül *Alternaria spp.* (rebarbara alternáriás levélfoltossága), *Ramularia rhei* (rebarbara ramuláriás levélfoltossága), *Ascochyta rhei* (rebarbara aszkohtás levélfoltossága), *Peronospora jaapiana* (rebarbara peronoszpóra), *Botrytis cinerea* (szürkepenész), *Erysiphe polygoni* (rebarbara lisztharmat), *Puccinia phragmitis* (rebarbararozsda). A vizsgált minták esetében az alábbi kórokozókat azonosítottuk: *Pseudomonas orientalis*, *Alternaria alternata*, *Ramularia rhei*, *Peronospora jaapiana*, *Erysiphe polygoni*.

2022-ben alternáriás levélfoltosság tünetei jelentek meg nagyrészt az állományban. A fertőzött rebarbara leveleken nagyméretű (1,5-2,5 cm), kezdetben barnuló, majd nekrotizálódó foltokat figyeltünk meg. Az *Alternaria* fajok széles körben elterjedtek a világon, azonban rebarbarán való előfordulásáról hazánkban még nem számoltak be. A foltok hasonlóak a mandula (**Internet 9**) és paradicsom (**Huckle et al., 2016**) levelén megfigyelt tünetekhez.

A kórokozót sikeresen tenyésztettük PDA táptalajon. **Chen et al. (2018)** is PDA táptalajon jellemezték a kórokozót: kör alakú és sötét olívaöld telepeket alkot, felületén szürkésfehér légmicéliummal, míg **Yu et al. (2015)** a következőket figyelték meg: kezdetben világosszürke, majd sötétzöldből feketévé válik a tenyészet. Az általunk vizsgált 11 napos tenyészet többnyire szabályos, kör alakú és barna színű volt.

A sikeres patogenitási vizsgálat mellett a kórokozó molekuláris vizsgálatát is elvégeztük. A polimeráz-láncreakció során az ITS1 és ITS4 univerzális primerekkel kb. 600 bázispár hosszúságú termékeket amplifikáltunk. A nemzetközi adatbázis szekvenciáit összehasonlítottuk a saját izolátumaink 520 bp hosszúságú szakaszával és arra a következtetésre jutottunk, hogy az általunk izolált kórokozó az *Alternaria alternata* gombafajjal azonosítható.

A *Ramularia rhei* által fertőzött leveleken megfigyelt tünetek megegyeznek az irodalmi adatokkal (**Internet 11.; Howard et al., 1996**). A szakirodalom nem tesz említést a tünetek megjelenésének idejéről és helyéről, és a foltok méretéről, de a mi megfigyeléseink alapján a tünetek a felsőbb érett leveleken jelentek meg először. A tünet megjelenése összefüggésbe

hozható a rebarbara első szedésének idejével (május). A foltok elérhetik átlagosan az 1 cm nagyságot is.

Howard et al. (1996) is leírta, hogy a *Ramularia rhei* és az *Ascochyta rhei* által előidézett levélfoltok nagyon hasonlítanak egymásra és nehéz az elkülönítésük. Azonban a foltokat lilás fénnyudvar vette körbe, ami a ramuláriás levélfoltosság jellemző tünete (**Internet 11**).

A *Ramularia rhei* kórokozó tenyésztése a vizsgálatok során nem volt sikeres, mert lassú növekedésű kórokozóról van szó, és izolálása során már egyéb kórokozók is jelen voltak (*Alternaria* és *Cladosporium* fajok), amelyek túlnőtték a *Ramularia* fajt (**Nagy, 2006**).

2023-ban baktériumos fertőzést figyeltünk meg az állományunkban. **Clark és Graham, (1962)** által leírtakban a *Pseudomonas marginalis* a levéllemezen kevésbé, de a rebarbara levélnyelén nedves, barna rothadásnak induló tüneteket okoz. Ilyen tüneteket kevésbé tapasztaltunk az állományban. A levélnyélből nem sikerült növénypatogén kórokozó kimutatása. Azonban a levéllemezen kisebb sárguló vizenyős, majd nagyobb barna foltokat figyeltünk meg. A tüneteket mutató mintából sikerült a kórokozó klasszikus és molekuláris azonosítása, igazoltuk a patogenitást. A rebarbara leveléről a *Pseudomonas orientalis* fajt mutattuk ki, mely eddigi ismereteink szerint eddig sem a hazai, sem a nemzetközi szakirodalomban nem került leírásra.

Sawada et al. (2022) által leírtakban a *Pseudomonas marginalis* azonosítása során elvégzett oxidáz, arginin-dihidroláz és burgonya lágyrothadás tekintetében pozitív eredményeket mutatott, valamint a *P. marginalis* fajra specifikus *rpoB* gén molekuláris vizsgálata alapján 630 bp hosszúságú szakaszt sikerült felszaporítani. A szakirodalomban leírt adatokkal szemben mi oxidáz és burgonya lágyrothadás tekintetében pozitív, míg arginin-dihidroláz esetében negatív eredményeket kaptunk, és az *rpoB* gén vizsgálata során, nem igazoltuk a *P. marginalis* fajt, mely alátámasztja a szabadföldi rebarbara állományban, levéllemezen a foltosodást a *P. orientalis* faj okozta.

A molekuláris vizsgálatok során izolátumunk a 16S rRNS vizsgálat során, a szekvencia analízis alapján 97,16-97,25% azonosságot mutat, más *Pseudomonas orientalis* izolátumokkal. A rebarbaráról származó izolátumunk (R1) a legközelebbi rokonságot a rizoszférából izolált *Pseudomonas orientalis* (KC834342.1, KC834324.1) izolátumokkal mutatja. Mivel izolátumunk csak 97%-os hasonlóságot mutatott, ezért további vizsgálatokra lesz szükség annak igazolására, hogy esetleg egy új *Pseudomonas* faj megjelenését igazoljuk rebarbarán.

2023-ban peronoszpóra fertőzést is megfigyeltünk az állományban. A *Peronospora jaapiana* szakirodalmi adatok alapján már palánta korban is fertőzhet, de ültetvényünkben nem

okozott tüneteket palánta korban. A leveleken megfigyelt tünetek részben megfeleltek **Huckle et al. (2016)** és **Francis (1981)** által leírtaknak, kezdetben a levelek felső felületén nagy szegletes, sárgás, vöröses-barnás foltokat láthatunk, majd idővel az erek megszakadnak és a levelek darabokra hullanak. **Huckle et al. (2016)** szerint a foltok 10 mm-t nagyságúak, azonban vizsgálatunk során a foltok mérete átlagosan elérte a 3,5-4,2 cm-es nagyságot.

Huckle et al. (2016) által mért sporangiumok mérete (28-30 x 14-18 μm) közel azonos mérettartományba esik a vizsgálatunkban szereplő sporangiumok méretével (24-32 x 13-17 μm).

Az *Erysiphe polygoni* által fertőzött rebarbara leveleken megfigyelt tünetek megfeleltek az **Howard et al. (1996)** által leírtaknak. A felső leveleken kezdetben foltszerűen jelent meg a tünet, majd idővel az egész levéllemezt beborította a fehéres, lisztes bevonat, amelybe ágyazottan kazmotéciumokat is megfigyeltünk. Érdekesség, hogy az állományban megjelent lisztharmat csak a 'Victoria' fajtán és azon belül is csak egy-két rebarbara bokron volt megfigyelhető. A kazmotéciumokban megjelenő aszkuszok száma (4-6) közel azonos volt **Bradley et al. (2007)** által leírtakkal (4-10).

A rebarbara növénykórtani háttere kevésbé kutatott terület nemcsak hazánkban, hanem világviszonylatban is. Hazánkban a rebarbara termesztése egyre nagyobb teret hódít, emiatt várhatóan a jövőben fokozódni fog a növénypatogén kórokozók megjelenése az állományokban, valamint a fertőzési nyomás, és ezzel együtt a megválaszolatlan növényvédelmi problémák is. Kutatásunk újszerűsége, hogy hazánkban a rebarbarán jelentős minőségi és mennyiségi kárt okozó kórokozókat eddig még nem vizsgálták, a jövőben akár súlyos gazdasági kárt is okozhatnak, mindenképpen figyelmet kell fordítanunk rá, és a tüneteket felismerni. Kiemelendő, hogy a *Pseudomonas orientalis* faj előfordulását elsőként igazoltuk rebarbara levelén. Jelen kutatás további vizsgálatokat igényel a kórokozók biológiájának, valamint további molekuláris hátterének feltárására.

6. Összefoglalás

A rebarbarát (*Rheum rhabarbarum*), mint zöldségnövényt hazai viszonylatban még kevesen ismerik, hiszen a termesztése nem túl elterjedt, viszont fogyasztása egyre gyakoribbnak tekinthető napjainkban, mert sokféle növényi rostot és vitamint tartalmaz, valamint változatosan fogyasztható. Családi gazdaságunk a szőlőtermesztés mellett rebarbara termesztésével is foglalkozik. Az évek során, ahogy egyre jobban kezdtem beletanulni a rebarbara termesztésébe, megfigyeltem, hogy a leveleken eltérő alakú és mintázottságú, valamint vizenyős foltok jelennek meg, ezáltal csökken az asszimilációs felület, ami kihat a levélnyel minőségére és mennyiségére.

Munkánk során célul tűztük ki, hogy szabadföldi rebarbara állományban, a rebarbara levelein előforduló különböző foltosodást, elhalást, rothadást mely kórokozók okozhatják, mivel kevés hazai és nemzetközi irodalom áll rendelkezésünkre. Célul tűztük ki a kórokozók izolálását, valamint klasszikus és molekuláris módszerekkel történő azonosítását.

A rebarbara levélmintákat a saját gazdaságunkból, Kiskőrösről és Közép-Cebéről gyűjtöttük, melyekről *Pseudomonas orientalis*, *Alternaria alternata*, *Ramularia rhei*, *Peronospora jaapiana* és *Erysiphe polygoni* kórokozókat azonosítottunk.

Vizsgálataink során az izolált kórokozók patogenitásának igazolását és molekuláris azonosítását a *Pseudomonas orientalis* és az *Alternaria alternata* esetében sikerült igazolnunk. A kórokozókat King-B és PDA táptalajon izoláltuk, majd patogenitási teszttel igazoltuk az izolátumok megbetegítő képességét.

A *Ramularia rhei* okozta tüneteket méretük és alakjuk alapján szabad szemmel nehéz elkülöníteni az *Ascochyta rhei* tüneteitől. Az *Ascochyta rhei* esetében azonban nem jelenik meg lilás fényudvar, és a levélnyélen sem okoz tüneteket.

A *Peronospora jaapiana* és az *Erysiphe polygoni* esetében a szaporítóképletek jellemzését végeztük és azokat vetettük össze az szakirodalmi adatokkal.

Vizsgálatunk során új adatokkal szolgálhattunk hazánkban a rebarbara növénykórtani problémáival kapcsolatban. A szakirodalomból ismert kórokozókon túl egy új, eddig még hazai és nemzetközi szinten nem ismert baktériumfajt, a *Pseudomonas orientalis*-t azonosítsunk szabadföldi rebarbara állományban.

7. Köszönetnyilvánítás

Mély hálával, szeretettel és tisztelettel szeretnék köszönetet mondani konzulenseimnek Dr. Tóth Annamáriának és Dr. Karacs-Végh Anitának a munkám elkészüléséhez nyújtott segítségükért, kitartó türelmükért és áldozatos munkájukért. A tőlük kapott rengeteg támogatás és biztatás nélkül a munkám nem készülhetett volna el. Nagyon sokat tanultam tőlük nemcsak szakmailag, hanem emberileg is, amit ezúton is nagyon köszönök.

Köszönettel tartozom Szendrei Lilla és Fodor Attila doktoranduszoknak, akik a labormunkáim elvégzése során mindig a segítségemre voltak és arra törekedtek, hogy a munkánk a legjobb minőségben tudjon elkészülni.

Végezetül köszönetet szeretnék mondani családomnak, akik mindvégig mellettem álltak, és támogattak a tanulmányaim során.

8. Irodalomjegyzék

1. Achbani E. H., Sadik S., El Kahkahi R., Benbouazza A., & Mazouz H. (2014). First report on *Pseudomonas marginalis* bacterium causing soft rot of onion in Morocco. *Atlas Journal of Biology*, 3 (2), 218-223.
2. Akhtar K. P., Saleem M. Y., Asghar M., Haq M. A. (2004). New report of *Alternaria alternata* causing leaf blight of tomato in Pakistan. *Plant Pathology*, 53 (6), 816-816.
3. Balázs S., Filus I., Hodossi S. (1987). *Zöldségkülönlegességek*, Mezőgazda kiadó, Budapest
4. Barkai-Golan R., Follett P. A. (2017). Irradiation for quality improvement, microbial safety and phytosanitation of fresh produce. Academic Press.
5. Bastas K. K. (2023). Bacterial diseases of potato and their control. In *Potato Production Worldwide* (179-197). Academic Press.
6. Bautista D. A. (2014). SPOILAGE PROBLEMS | Problems Caused by Bacteria. *Encyclopedia of Food Microbiology* (Second Edition) 2014, Pages 465-470.
7. Beiki F., Busquets A., Gomila M., Rahimian H., Lalucat J., García-Valdés E. (2016). New *Pseudomonas spp.* are pathogenic to citrus. *PLoS One*, 11 (2), e0148796.
8. Bellé C., Gabriel M., Balardin R. R., Nora D. D., Antonioli Z. I. (2019). Report of *Alternaria alternata* causing leaf spot on *Gerbera jamesonii* in Brazil. *Journal of Plant Pathology*, 101, 803-803.
9. Blázovics A. (2016). *Avicenna és a modern farmakognózia, Művelődés-, Tudomány- és Orvostörténeti folyóirat.*
10. Bradley C. A., Burlakoti P., Nelson R. S., Khan M. F. R. (2007). First Report of the Perfect Stage of Powdery Mildew of Sugar Beet in North Dakota Caused by *Erysiphe polygoni*. *Plant Disease*, 91 (4), 470-470.
11. Chen Y.-J., Meng Q., Zeng L., Tong H.-R. (2018). Phylogenetic and morphological characteristics of *Alternaria alternata* causing leaf spot disease on *Camellia sinensis* in China. *Australasian Plant Pathology*, 47 (3), 335–342.
12. Clark M. R., Graham D. C. (1962). A disease of forced rhubarb associated with *Pseudomonas marginalis*. *Plant Pathology*, 11 (1), 31-33.
13. Clarridge III J. E. (2004). Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clinical microbiology reviews*, 17 (4), 840-862.
14. Clifford M.F., Dale E. M. (1991). Culinary rhubarb production in North America: History and Recent Statiszics- *HortScience* 26 (11), 1360-1363.
15. Cojocaru A., Vlase L., Munteanu N., Stan T., Teliban G. C., Burducea M., Stoleru V. (2020). Dynamic of phenolic compounds, antioxidant activity, and yield of rhubarb under chemical, organic and biological fertilization. *Plants*, 9 (3), 355.
16. Czina M., Karacs-Végh A., Fodor A. (2022). KÁPOSZTAFÉLÉK FEKETEERŰSÉG BETEGSÉGE: vetőmag fertőzöttség vizsgálat, mesterséges fertőzés/fajtafogékonysági vizsgálat, természetes eredetű anyagok baktericid hatásának értékelése. Diplomamunka, Magyar Agrár- és élettudományi Egyetem, Budapest.
17. Dabboussi F., Hamze M., Elomari M., Verhille S., Baida N., Izard D., Leclerc H. (1999). Taxonomic study of bacteria isolated from Lebanese spring waters: proposal for *Pseudomonas cedrella sp. nov.* and *P. orientalis sp. nov.* *Research in microbiology*, 150 (5), 303-316.
18. Daniel G. (2007). A székelyek népe Erdélyben-ACTA SICULICA, 535-550.
19. Dene B. I. (1910). A kerti rebarbara 1910-04-01 / 7. szám 205. oldal Konyhakertészet

20. Dorogi L. (1988). Különleges zöldségfélék-A rebarbara 1988-02-27 / 56.szám Magyar Szó
21. Dregus M., Barta J., Karl-Heinz E. (2001). A rebarbara és felhasználása- Élelmezési ipar, L.V évf. 9. szám
22. Elisabetta M. Clementi., Francesco Misti (2010). Potential Health Benefits of Rhubarb-Bioactive Foods in Promoting Health-Fruits and Vegetables, 407-423.
23. Elise M. (2020). Are rhubarb leaves safe to eat? – Healthline
24. Eman A. I., Doha H. A. B., Farouk K. (2016). Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities of Rhubarb roots Extract
25. Fang P., Shi S., Liu X., Zhang Z. (2020). First report of *Alternaria* black spot of rose caused by *Alternaria alternata* in China. Journal of Plant Pathology, 102, 273-273.
26. Francis S. M. (1981). *Peronospora jaapiana*. [Descriptions of Fungi and Bacteria]. Descriptions of Fungi and Bacteria, (69), 687.
27. Gaetán S., Madia, M. (2004). First report of canola powdery mildew caused by *Erysiphe polygoni* in Argentina. Plant disease, 88 (10), 1163-1163.
28. Gawande V. L., Patil, J. V. (2003). Genetics of powdery mildew (*Erysiphe polygoni* DC) resistance in Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). Crop Protection, 22 (3), 567-571.
29. He Z. H., He M. F., Ma S. C., But P. P. H. (2009). Anti-angiogenic effects of rhubarb and its anthraquinone derivatives. Journal of Ethnopharmacology, 121 (2), 313-317.
30. Hegedűs A. (2013). A csonthéjas gyümölcsök antioxidáns hatásában megnyilvánuló genetikai variabilitás jellemzése.
31. Hong S. H., Lee Y. H., Choi Y. J., Shin, H. D. (2019). First Report of Powdery Mildew Caused by *Erysiphe polygoni* on *Rumex obtusifolius* in Korea. Plant Disease, 103 (5), 1043-1043.
32. Howard R. J., Garland J. A., Seaman W. L., Grafius, E. J. (1996). Diseases and pests of vegetable crops in Canada. Journal of Economic Entomology, 89 (4), 1045-1045.
33. Howard W. H. (1967). Storage and Shelf Life of Packaged Rhubarb – U.S. Department of Agriculture
34. Huckle A., Mayne S., Creed C. (2016). Rhubarb downy mildew. AHDB Horticulture is a part of the Agriculture and Horticulture Development Board (AHDB).
35. Index Fungorum <http://www.indexfungorum.org> (2023.09.23.)
36. Jeszenkszky Á. (1931). Rebarbara talaj 1931. január-5. évfolyam Kertészet
37. King E. O., Ward M. K., Raney D. E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 44 (2), 301-307.
38. Leja K., Szudera-Kończal K., Światała E., Juzwa W., Kowalczewski P. Ł., Czaczyk K. (2019). The influence of selected plant essential oils on morphological and physiological characteristics in *Pseudomonas orientalis*. Foods, 8 (7), 277.
39. Lelliott R. A., Billing E., Hayward A. C. (1966). A Determinative Scheme for the Fluorescent Plant Pathogenic *Pseudomonads*. Journal of Applied Bacteriology, 470-489.
40. Li J., Chai Z., Yang H., Li G., Wang, D. (2007). First report of *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* as a cause of soft rot of potato in China. Australasian Plant Disease Notes, 2 (1), 71-73.
41. Long H., Yang S., Yin X., Zhao Z., Long Y., Fan J., Gu, G. (2021). First report of leaf spot on *Prunus salicina* caused by *Alternaria alternata* in China. Journal of Plant Pathology, 103, 1021-1021.
42. Lopez S. E., Cabral, D. (1999). *Alternaria*, Encyclopedia of Food Microbiology.
43. Lőrincz Zs. (2007). Rebarbara-Terebess konyhakert

44. Montgomery L. M. (1930). Rhubarb Culture – Department of Horticulture, The Ohio State University
45. Mycobank: www.mycobank.org (2023.09.23.)
46. Nagy G. (2006). Gyógy és fűszernövényeken előforduló konídiumtartós gombák. Doktori Értekezés
47. Natter-Nád M. (1962). A rebarbara 1962-05-13 / 19. szám Élet és Tudomány
48. Nonn J. (1910). Zöldségtermesztés-A rebarbara 1910. Január / 1. szám Konyhakertészet
49. Rápóti J., Rom Váry V. (1997). Gyógyító növények-Medicinia Könyvkiadó Rt.-Budapest.
50. Roggemans P. Boxus (1988). Rhubarb (*Rheum rhaponticum* L.)-Part of the Biotechnology in Agriculture and Forestry book series, Agriculture, 6.
51. Santos Kron A., Zengerer V., Bieri M., Dreyfuss V., Sostizzo T., Schmid M., Pelludat C. (2020). *Pseudomonas orientalis* F9 pyoverdine, safracin, and phenazine mutants remain effective antagonists against *Erwinia amylovora* in apple flowers. Applied and environmental microbiology, 86 (8), e02620-19.
52. Sawada H., Fujikawa T., Satou M. (2022). Dismantling and reorganizing *Pseudomonas marginalis* sensu lato. Plant Pathology 72 (4), 654-666.
53. Singh P., Singh S. M., Roy U. (2016). Taxonomic characterization and the bio-potential of bacteria isolated from glacier ice cores in the High Arctic. Journal of basic microbiology, 56 (3), 275-285.
54. Som P., Saharan G. S. (2000). Conidial germination of *Erysiphe polygoni* causing powdery mildew of fenugreek. Indian Phytopathology, 53 (3), 318-320.
55. Taun B.(2011). Rhubarb in the Garden- USU Extension Cache County Horticulture Extension Agent
56. Terbe I. (2000). Levélzöldségfélék-Dinasztia Kiadó-ház Rt.-Budapest
57. Troncoso-Rojas R., Tiznado-Hernández M. E. (2014). *Alternaria alternata* (black rot, black spot). In Postharvest decay (147-187). Academic Press.
58. Umesh R. (2009). Nutrition of rhubarbs
59. Van der Waals J. E., Pitsi B. E., Marais C., Wairuri C. K. (2011). First report of *Alternaria alternata* causing leaf blight of potatoes in South Africa. Plant Disease, 95 (3), 363-363.
60. Videira S. I. R., Groenewald J. Z., Braun U., Shin, H. D., Crous, P. W. (2016). All that glitters is not *Ramularia*. Studies in Mycology, 83, 49-163.
61. Vukovics G. (2006). A rebarbara, 2006-04-22 / 92.szám Magyar Szó
62. White T. J., Bruns T., Lee S., Taylor J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: a guide to methods and applications (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds). Academic Press, San Diego, USA. 315–322.
63. Yahia E. M. (Ed.). (2011). Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits: fundamental issues. Elsevier.
64. Yu Y., Zeng L., Huang L., Yan Z., Sun K., Zhu T., Zhu, A. (2015). First report of black leaf spot caused by *Alternaria alternata* on ramie in China. Journal of Phytopathology, 164 (5), 358-361.
65. Zengerer V., Schmid M., Bieri M., Müller D. C., Remus-Emsermann M. N., Ahrens C. H., Pelludat C. (2018). *Pseudomonas orientalis* F9: a potent antagonist against phytopathogens with phytotoxic effect in the apple flower. Frontiers in microbiology, 9, 145.

66. Zhang Z. K., Zhang W. X., Kou Z. A., Wang X. F., Wang Y. L., Islam R., Tian Y. Q. (2022). First Report of Powdery Mildew Caused by *Erysiphe polygoni* on *Trifolium repens* in China. *Plant Disease*, 106 (12), 3215.
67. Zhao Y., Grout B. W., Crisp, P. C. (2005). Unexpectedly high susceptibility of micropropagated rhubarb (*Rheum rhaponticum* L.) to spot disease caused by *Ramularia rhei*. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 70 (1), 75-79.
68. Zhao Y., Grout B. W., Xu, X. (2006). Effects of temperature on germination and hyphal growth from conidia of *Ramularia rhei* and *Ascochyta rhei*, causing spot diseases of rhubarb (*Rheum rhaponticum*). *Plant Pathology*, 55 (5), 664-670.

9. Internetes hivatkozások

1. Internet 1: <https://sobors.hu/gasztro/rebarbara-felhasznalasa-vasarlasa>
2. Internet 2: <https://www.rhubarb-central.com/rhubarb-pests.html>
3. Internet 3 <https://www.gbif.org/species/3223157>
4. Internet 4 https://www.gbif.org/occurrence/search?taxon_key=3223157
5. Internet 5: <https://gd.eppo.int/taxon/PSDMMS>
6. Internet 6: <https://lpsn.dsmz.de/species/pseudomonas-marginalis>
7. Internet 7: <http://ephytia.inra.fr/en/C/5454/Salads-Pseudomonas-marginalis-pv-marginalis-Marginal-leaf-spot>
8. Internet 8:
https://www.google.com/search?q=pseudomonas+marginalis+in+lettuce&tbm=isch&ved=2ahUKEwjL1Imflf-BAxXh8rsIHbdRBDIQ2-cCegQIABAA&oq=pseudomonas+marginalis+in+lettuce&gs_lcp=CgNpbWcQA1DrDViTf2DRI2gAcAB4AIABxQOIAbIJkgEHMy40LjQtMZgBAKABAaoBC2d3cy13aXotaW1nwAEB&sclient=img&ei=j5UvZYvRNOHl7_UPT6ORkAM&bih=707&biw=1536&rlz=1C1BNSD_huHU969HU969#imgsrc=_ScIrYILukLHgM
9. Internet 9: <https://ipm.ucanr.edu/agriculture/almond/alternaria-leaf-spot/>
10. Internet 10: <https://gd.eppo.int/taxon/ALTEAL/photos>
11. Internet 11: <https://agrobasesapp.com/united-states/disease/ramularia-leaf-spot-of-rhubarb>
12. Internet 12: <https://www.sciencephoto.com/media/1212559/view/rhubarb-leaves-damaged-by-downy-mildew>
13. Internet 13:
https://explorer.natureserve.org/Taxon/ELEMENT_GLOBAL.2.1167518/Erysiphe_polygoni
14. Internet 14: <https://www.gbif.org/species/2578939>
15. Internet 15:
https://dtk.tankonyvtar.hu/bitstream/handle/123456789/3173/zoldsegnovenyek_betegsegei.pdf?sequence=1&isAllowed=y

10. Ábrák és táblázatok jegyzéke

1. ábra: Rebarbara ültetvény (Fotó: Varga, 2022).....	6
2. ábra: Rebarbara szedése (Fotó: Varga, 2022)	8
3. ábra: Rebarbara elkészítésének módjai, felhasználása (Forrás: Internet 1).....	10
4. ábra: Meztelencsiga és foltos növényi poloska a rebarbara állományban (Fotó: Varga, 2023).....	11
5. ábra: <i>Pseudomonas orientalis</i> földrajzi elterjedése	13
6. ábra: <i>Pseudomonas marginalis</i> földrajzi elterjedése (Forrás: Internet 5)	14
7. ábra: <i>Pseudomonas marginalis</i> salátán okozott tünete (Forrás: Internet 8).....	15
8. ábra: <i>Pseudomonas marginalis</i> tünete rebarbarán (Forrás: Sawada et al., 2022)	15
9. ábra: <i>Alternaria alternata</i> tünete mandula levelén (Forrás: Internet 9)	17
10. ábra: <i>Alternaria alternata</i> tünete paradicsom levelén (Forrás: Akhtar et al., 2004) ..	17
11. ábra: <i>Alternaria alternata</i> konídiumai (Forrás: Internet 10)	18
12. ábra: <i>Ramularia rhei</i> által okozott tünet rebarbara levelén (Forrás: Internet 11)	19
13. ábra: <i>Peronospora jaapiana</i> által okozott tünet rebarbara levelén (Forrás: Internet 12).....	21
14. ábra: <i>Erysiphe polygoni</i> földrajzi elterjedése (Forrás: Internet 14)	22
15. ábra: Kiskőrösi természetösterület (Fotó: Varga, 2023).....	24
16. ábra: Közép-Cebei természetösterület (Fotó: Varga, 2023)	24
17. ábra: Növényi rész PDA táptalajra való leoltása (Fotó: Pecze, 2022)	29
18. ábra: Növényi minták homogenizálása és szélesztése steril táptalajra (Fotó: Varga, 2023).....	29
19. ábra: Levelek fertőtlenítése (Fotó: Varga, 2022).....	32
20. ábra: Micélium korongok levélre való helyezése (Fotó: Varga, 2022)	32
21. ábra: Egészséges levelek mesterséges fertőzése (Fotó: Karacs-Végh, 2023).....	33
22. ábra: Tünetet mutató rebarbara levél (Fotó: Varga, 2023)	36
23. ábra: Az R1 izolátum tenyészbélyege King-B táptalajon (Fotó: Varga, 2023).....	37
24. ábra: A patogenitási teszt eredménye a fertőzés követő 7. napon (Fotó: Varga, 2023)	38
25. ábra: Izolátumok filogenetikai törzsfája a 16S rRNS gén szekvenciák alapján, génbanki izolátumokkal. Saját izolátum rebarbaráról: R1. A törzsfá UPGMA módszerrel készült.....	39
26. ábra: <i>Pseudomonas marginalis</i> fajra specifikus rpoB génszakasz PCR termékeinek ellenőrzése 1%-os agaróz gélben.....	40
27. ábra: Az <i>Alternaria alternata</i> okozta tünet a rebarbara levelén (Fotó: Varga, 2022)	41
28. ábra: <i>Alternaria alternata</i> (R5 izolátum) tenyészbélyege: A: színi oldal, B: fonáki oldal (Fotó: Varga, 2022)	42
29. ábra: A patogenitási teszt eredménye (Fotó: Varga, 2022)	42
30. ábra: Az <i>Alternaria alternata</i> izolátumok dendrogramja az ITS régió szekvenciárészlete alapján	43
31. ábra: A <i>Ramularia rhei</i> okozta tünetek a rebarbara levelén (Fotó: Varga, 2022)	44
32. ábra: A <i>Peronospora jaapiana</i> okozta tünetek a rebarbara levelén (Fotó: Varga, 2023).....	45
33. ábra: A <i>Peronospora jaapiana</i> sporangiumtartója és sporangiumai 400X-os nagyításon (Fotó: Varga, 2023)	46

34. ábra: Az *Erysiphe polygoni* okozta tünetek a rebarbara levelén (Fotó: Varga, 2023) 47
35. ábra: Az *Erysiphe polygoni* kazmotéciuma 200X-os nagyításon (Fotó: Varga, 2023) 47

1. táblázat: A rebarbara kártevői (Forrás: Internet 2).....	11
2. táblázat: A rebarbara kórokozói (Forrás: Howard et al., 1996)	12
3. táblázat: Az <i>Alternaria alternata</i> konídiumok méretei.....	18
4. táblázat: Vizsgálatba vont izolátumok paraméterei	25
5. táblázat: Szaporítás technológiai terv	28
6. táblázat: LOPAT teszt eredményei	37
7. táblázat: A <i>Peronospora jaapiana</i> morfológiai bélyegeinek mérettartományai	46

NYILATKOZAT

a záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió¹ nyilvános hozzáféréseiről és eredetiségéről

A hallgató neve: VARGA MÁTÉ
A Hallgató Neptun kódja: KUKZTJ
A dolgozat címe: KISKÖRÖSÖN REBÁRBARA (RHEUM RHABARBARUM)
A megjelenés éve: 2023 ALLOPATRIKUS ELŐFORDULÓ KÓRKOZÓK
A konzulens intézetének neve: NÖVEDEVÉDELMI INTÉZET ASZONOSÍTÁSA
A konzulens tanszékének a neve: NÖVEDEVÉDELMI TANSZÉK

Kijelentem, hogy az általam benyújtott záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió² egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlant 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 tulajdon-kezelési 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: 2023 év 10 hó 24 nap

Varga Máté
Hallgató aláírása

¹ A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

² A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

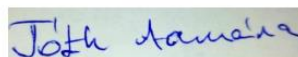
NYILATKOZAT

Varga Máté (hallgató Neptun azonosítója: KUKZTJ) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót a záróvizsgán történő védésre javaslom / nem javaslom.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem

Kelt: Budapest, 2023. november 2.



belső konzulens

NYILATKOZAT

Varga Máté (hallgató Neptun azonosítója: KUKZTJ) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót¹ áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót a záróvizsgán történő védésre javaslom / nem javaslom².

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem^{*3}

Kelt: Budapest, 2023. november 2.



belső konzulens