

## DÍSZFÁK KÉRGÉN REPEDÉST, VÁLADÉKFOLYÁST OKOZÓ BAKTÉRIUMFAJOK AZONOSÍTÁSA

*Tenorio-Baigorria Imola<sup>1</sup> - Palkovics László<sup>2</sup> - Végh Anita<sup>3\*</sup>*

*<sup>1</sup>NÉBIH, Élelmiszerlánc-biztonsági Laboratórium Igazgatóság, Növény-  
egészségügyi Diagnosztikai Nemzeti Referencia Laboratórium*

*<sup>2</sup>Széchenyi István Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar,  
Növénytudományi Tanszék*

*<sup>3</sup>MATE, Növényvédelmi Intézet*

\*karacs.vegh.anita@uni-mate.hu

### Összefoglalás

Számos nemzetközi és hazai publikációban számolnak be *Brenneria* és *Lonsdalea* nemzetségbe tartozó újabb és újabb baktériumfajokról, melyek kéregrepedést és váladékfolyást okoznak díszfákon. 2019-2021 között Budapest több pontjáról mintákat gyűjtöttünk a közterületek, parkok különböző díszfáiról, kéregrepedésekből, váladékfolyásokból. King B táptalajon tiszta tenyészetet állítottunk elő. A kórokozókat klasszikus (morfológiai, biokémiai, Gram-tulajdonságok, hiperszenzitív reakció és patogenitás vizsgálata) és molekuláris vizsgálati módszerekkel (PCR-16S rRNS) azonosítottuk. Eredményeink alapján a kórokozókat a *Brenneria* nemzetségbe soroltuk. Az utóbbi évek hosszú, meleg és párás nyarai elősegítették a *Brenneria* és *Lonsdalea* fajok megjelenését és terjedését. Részben ez a tényező is hozzájárul ahhoz, hogy hazánkban a közterületek, parkok díszfáin egyre több baktériumfaj kerül leírásra

ezekből a nemzetségekből. A baktériumok elleni védelemben problémát jelent a közterületek növényvédelmi szabályozása, a lombfelület nem megfelelő kezelése, a higiéniai rendszabályok be nem tartása, valamint a hatásos növényvédő szerek hiánya.

Kulcsszavak: kéregbetegség, *Brenneria*, *Lonsdalea*, díszfák

### Abstract

In the last few years several reports were published about bacterial species (*Brenneria* and *Lonsdalea* spp.) causing bark cancers on deciduous ornamental trees. Infected trees are characterised by symptoms of woody parts: vertical cracks on trunk and branches, necrosis, cankers from which black or reddish-brownish fluid is oozing. These bacteria cause serious problems in nurseries, public areas and parks. Our purposes were to survey, isolate and identify the causing agents of bark cancers and oozing liquids. Between 2019 and 2021 from several points of Budapest samples were collected. By classical and molecular methods were analysed and verified that *Brenneria* species are responsible for the bark canker diseases on ornamental trees. Their presence on ornamental trees in Hungary is increasing problems of plant protection in urban environment. Pathogens attack primarily older trees which treatment could be solved hardly. There aren't effective appropriate application methods and pesticides against bacteria, the treatments could perform in the evenings or at night – after informing people who lives there.

Keywords: bark canker, *Brenneria*, *Lonsdalea*, ornamental trees

### Bevezetés

Az elmúlt évszázadban az erdők faállományára, díszfákra veszélyt jelentő kórokozók száma jelentősen megnőtt (Redondo et al., 2015). Évről évre több új kórokozó és kártevő faj jelenik meg nagy számban, amelyeket korábban sem hazánkban, sem a szomszédos országokban nem gondoltak potenciális problémának (Csóka et al., 2013). A kórokozó fajok invazívá válásában a változó környezeti tényezőknek döntő szerepe van.

A fás szárú növények, díszfák kéregbetegségeinek kezelését illetően jelenleg korlátozott lehetőségek állnak rendelkezésünkre. A klímaváltozás miatt erdeink, parkfáink egészségügyi állapotára egyéb tényezők is befolyással bírnak: az egyre gyakoribb szélsőségek miatt az abiotikus tényezők okozta károkat is számításba kell vennünk. Ez jelentheti az aszályos időszak során végzett öntözést, vagy akár a faápolási munkálatok körültekintő elvégzését, különös tekintettel a fán ejtett sebzések elkerülésére. Erre azért van szükség, mert a sebzések utat nyitnak a kórokozóknak, innen pedig egyenes út vezet magához a fertőzéshez (Forrás: TCIA). Ha a klímaváltozásra alapozott előrejelzések akár csak kis hányada is beigazolódik, a jövőre nézve sem valószínű, hogy ezek a negatív trendek fordulatot vesznek. A növényvédelmi problémák jelentősége nőni fog, a kórokozók és kártevők terjedése, globalizációja folytatódik (Csóka et al. 2013).

Az utóbbi években számos nemzetközi és hazai publikáció jelent meg a lombhullató díszfák kéregrepedését, kátrányosodását, feketefolyását okozó baktériumok (*Brenneria nigrifluens*, *Brenneria alni*, *Brenneria rubrifaciens*, *Brenneria salicis*, *Brenneria populi*, *Lonsdalea quercina* subsp. *quercina*) előfordulásáról, azonosításáról.

Hazánkban előforduló *Lonsdalea* és *Brenneria* baktériumfajok közül a *Brenneria salicis* került elsőként leírásra. A fűzfák baktériumos hervadását Győr-Moson-Sopron megyéből jelezték, ugyanis a kórokozó fertőzése következtében nagymértékű fapusztulást figyeltek meg. A baktérium azonosítása klasszikus módszerekkel történt (Németh et al., 1999). Több, mint tíz

évvel később Végh és munkatársai (2015) végezték el a kórokozó azonosítását molekuláris módszerekkel is, miután budapesti fűzfáról is izolálták a baktériumfajt. Végh és munkatársai (2013) számoltak be a *Brenneria nigrifluens* kórokozó magyarországi megjelenéséről. A kórokozó által okozott tüneteket Zánkán figyelték meg, egy házikertben található diófán. A *Brenneria* fajokra jellemző tünetek jelentek meg a fertőzött diófa törzsének kérgén (kéregrepedések és váladékszivárgás). A *Lonsdalea quercina* subsp. *populi* kórokozó első megjelenését Tóth és munkatársai (2013) írták le. A baktériumfaj a nyárfákat fertőzi, rákos sebeket, és fehéres színű nyálkafolyást okoz a fák törzsén. Hazánkban 2016-tól kezdve több díszfán (szil, nyár, nyír, platán, vadgesztenye) előforduló kéregrepedésből, valamint abból előtörő váladékból azonosításra került több *Brenneria* faj is (Dávid, 2015; Galambos, 2016; Gyuris, 2020; Tenorio-Baigorria et al., 2017; 2019).

### Anyag és módszer

2019-2021 között mintákat gyűjtöttünk a közterületek, parkok lombhullató díszfáiról (1. ábra). Mintát vettünk azokról a fákról, amelyeknek törzsén rákos sebeket, kéregrepedéseket, valamint azokból szivárgó sötét színű váladékot figyeltünk meg. A mintákat a MATE, Budai Campus, Növényvédelmi Intézet, Növénykörtani Laboratóriumába szállítottuk. A mintákat feldolgoztuk, homogenizáltuk, majd tenyésztettük. Az izolátumokat King B táptalajon (King et al., 1954) tartottuk fenn, tiszta tenyészetet állítottunk elő, és megállapítottuk a kórokozók morfológiai tulajdonságait. Ezt követően klasszikus és molekuláris bakteriológiai módszerekkel is vizsgáltuk az izolált baktériumokat (Garrity et al., 2007). Kálium-hidroxid teszttel meghatároztuk a kórokozók Gram-tulajdonságát. Vizsgáltuk hiperszenzitív reakció kialakulását dohányleveleken (*Nicotiana tabacum* L. cv. 'Xanthi'), melyhez 24 órás tenyészetből készítettünk baktérium szuszpenziót ( $5 \times 10^7$  sejt/ml) (Klement, 1982). Minden kórokozó esetén patogenitási vizsgálatot végeztünk, melyekhez 24 órás tenyészetből készített

baktérium szuszpenziót használtunk a fásdugványok fertőzéséhez. A tüneteket három hónappal az inokulációt követően értékeltük. A molekuláris vizsgálatok során specifikus primerekkel (63f, 1389r) kiemeltük, majd felszaporítottuk a 16S rRNS-t kódoló génszakaszt és meghatároztattuk nukleinsav sorrendjüket (Maniatis et al., 1989). A kapott szekvenciákat összehasonlítottuk a hazánkban már azonosított *Brenneria* izolátumok, valamint az NCBI adatbázisban rendelkezésre álló, szintén kéregbetegséget okozó, különböző országokból, különböző gazdanövényekről származó baktériumfajok szekvenciáival.



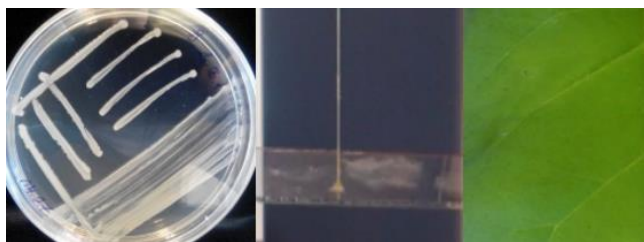
1. ábra Tüneteket mutató díszfák Budapesten

(Fotó: Végh, 2019,2020)

### Eredmények értékelése

Az utóbbi években közterületeken, parkokban lévő díszfák törzsén kéregpedéseket figyeltünk meg, melyekből párás és meleg körülmények között sötét színű, vízszerű, esetenként kellemetlen szagú váladék szivárgott. A különböző díszfákról (nyír, platán, vadgesztenye, szil) nyolc izolátumot tudtunk tiszta tenyészetbe hozni, melyek könnyen tenyészthetőek voltak King B táptalajon. A tenyészetek egyöntetűen sima felületűek, ép szélűek, fehéres színűek voltak, enyhén kékes árnyalattal és enyhén kiemelkedtek a táptalajból. Gram-tulajdonságukat tekintve minden izolátum Gram-negatív volt, mivel a 3%-os KOH oldat oldotta a baktériumok sejtfalát. Az izolátumok  $5 \times 10^7$  sejt/ml töménységű szuszpenziójával inokulált dohánynövények levelein

nem alakult ki szöveti nekrosis egyik esetben sem (2. ábra). A patogenitás vizsgálatok az izolátumok szuszpenziójával inokulált fásdugványok minden esetben fertőzödtek, a tünetek értékelése 3 hónappal a fertőzést követően történt. A nyír, platán, vadgesztenye esetén gyengébb, kevésbé tipikus tünetek alakultak ki, míg a szil esetén ezzel ellentétben az ágak elszáradtak, elhaltak, rajtuk a levelek elbarnultak. A fertőzött dugványokról a kórokozót sikeresen visszaizoláltuk.



2. ábra Klasszikus bakteriológiai vizsgálat eredményei (Fotó: Végh, 2021)

(Balról jobbra: tenyészbélyeg King-B táptalajon; Gram-negatív tulajdonság meghatározás KOH teszttel; hiperszenzitív indukáló képesség vizsgálat negatív-nincs szöveti nekrosis dohánynövény levelén)

A 16S rRNS génszakasz vizsgálatát követően 1300 bázispár hosszúságú termékeket kaptunk. A rendelkezésünkre álló szekvenciákat összevetettük a hazánkban eddig izolált *Brenneria* és *Lonsdalea*, valamint az NCBI adatbázisban rendelkezésre álló, kéregbetegséget okozó, különböző származású *Lonsdalea* és *Brenneria* baktériumfajok szekvenciáival. Izolátumaink szekvenciái legnagyobb mértékben (97-99%) *Brenneria* fajok izolátumaival egyeztek meg, közülük is, legközelebbi rokonságot a *Brenneria nigrifluens* izolátumokkal mutatták. A kórokozók klasszikus és molekuláris bakteriológiai vizsgálata alapján elmondhatjuk, hogy a kéregpedéseket, váladékfolyást a platán-, szil-, vadgesztenye- és nyírfákon eddigi eredményeink alapján a *B. nigrifluens* kórokozó okozta. A *Brenneria*

nemzetiségbe tartozó baktériumfajok melegkedvelők, az utóbbi évek hosszantartó forró nyarai elősegíthetik a kórokozók felszaporodását, elterjedését hazánkban. A lombhullató díszfák között vannak jó várostűrő fajok, melyek jelenlétükkel télen-nyáron hozzájárulhatnak a nagyvárosokban élő emberek egészségéhez. Ezeknek a fáknek köszönhetően jobb a városok levegője, a forróbb napokon árnyékot biztosítanak, valamint stresszoldó hatásuk is bizonyított. Ezért tartjuk fontosnak a jövőben azonosítani a további, jelen lévő baktériumfajokat is, felmérni elterjedésüket, valamint az ellenük való védekezési lehetőségek kidolgozását (például egészséges szaporítóanyag használata új telepítéseknel, lehetőségekhez mérten eszközök fertőtlenítése).

### Köszönetnyilvánítás

„Az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-21-5-MATE-6 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.”

### Irodalom

- Csóka Gy., Hirka A., Koltay A. és Kolozs L. 2013. Erdőkárok. Budapest. NÉBIH Erdészeti Igazgatósága és az Erdészeti Tudományos Intézet.
- Dávid O. 2015. A platán új baktériumos betegsége. Diplomamunka. Budapesti Corvinus Egyetem. Budapest.
- Galamboš N. 2016. A brennériás betegség új gazdanövénye a nyír (*Betula pendula* Roth.). Diplomamunka. Szent István Egyetem. Budapest.
- Garrity, G., Brenner, Don J., Krieg, N.R. and Staley, J.R. 2007. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 2: The Proteobacteria. Part B The Gammaproteobacteria. *Springer Science & Business Media*. 2. 587-640.

- Gyuris R. 2020. A vadgesztenyefa injektálása során felmerülő növényvédelmi problémák, Diplomamunka. Szent István Egyetem. Budapest.
- King, E.O., Moore, E.R.B., Vauterin, L., Steenackers, M., Mergaert, J., Verdonck, L. and Swings, J. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. **44**. 301–307.
- Klement, Z. 1982. Hypersensitivity, In: *Phytopathogenic Prokaryotes*, Vol. 2. Mount, M.S. and Lacy, G.H. eds. Academic Press, New York, 147–177.
- Maniatis, T., Sambrook, J. and Fritsch, E.F. 1989. *Molecular cloning: A laboratory manual* (3rd volume). New York: Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor.
- Németh J., Csonka I. és Szabó L. 1999. *Erwinia salicis* okozta fapusztulás fehér fűz állományban. 45. Növényvédelmi Tudományos Napok. Budapest. 119.
- Redondo, M.A., Boberg, J., Olsson, C.H.B. and Oliva, J. 2015. Winter conditions correlate with *Phytophthora alni* subspecies distribution in Southern Sweden. *Phytopathology*. **105**(9). 1191-1197.
- Tenorio-Baigorria, I., Végh, A. and Palkovics, L. 2017. Plant protection problems of ornamental trees in public spaces and parks. 15th Wellmann International Scientific Conference, Hódmezővásárhely, 2017. május 3., Book of abstracts. 76-77.
- Tenorio-Baigorria, I., Koltay, A., Karacs-Végh, A. and Palkovics, L. 2019. *Brenneria* and *Lonsdalea* species in Europe. IUFRO 7.03.10. Methodology of forest insect and disease survey in Central Europe Meeting 2019, Recent Changes in Forest Insects and Pathogens Significance 16 - 20 September 2019 Suceava, Romania. Book of abstracts. 84.
- Tóth, T., Lakatos, T. and Koltay, A. 2013. *Lonsdalea quercina* subsp. *populi* subsp. nov., isolated from bark canker of poplar trees. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. **63**. 2309–2313.



Végh A., Tóth A., Zámbó Á., Borsos G. és Palkovics L. 2013. A dió (*Juglans regia* L.) kéregrepedése, feketefolyása: új baktériumos betegség Magyarországon. *Növényvédelem*. **49**(9). 397–401.

Végh A., Soós I. és Palkovics L. 2015. A *Brenneria salicis* baktériumfaj jellemzése, első hazai molekuláris azonosítása. 61. Növényvédelmi Tudományos Napok. Budapest. 55.