

Baktérium okozta kéregbetegség szilfákon

**Tenorio-Baigorria Imola, Végh Anita*, Némethy Zsuzsanna, Hadar Zsófia és
Palkovics László**

Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar, Növénykórtani Tanszék

1118 Budapest, Ménesi út 44.

**e-mail: Karacs.Vegh.Anita@kertk.szie.hu*

Összefoglalás

A szilfélék már a 18. században is a kedvelt díszfák közé tartoztak: gyakran ültették útsorfaiként, illetve parkokba és közterületekre. Napjainkban már ritkábban alkalmazzák, ugyanis a hazánkban előforduló szilfajok nagy része érzékeny a szilfavészre (*Ophiostoma ulmi* (Buisman) Nannf. 1918). Emellett a szilfák ki vannak téve az abiotikus (városi környezet velejárói, szélsőséges éghajlati viszonyok, stb.) és a biotikus tényezőknek (kórokozók, kártevők) egyaránt. Az utóbbi években kisebb-nagyobb kéregrepedéseket, valamint azokból szivárgó világosbarnás színű váladékfolyást figyeltünk meg a szilfákon (*Ulmus* spp.). Néhány, különböző helyről származó, tüneteket mutató fákról mintát gyűjtöttünk. Az izolátumokat tiszta tenyészetbe hoztuk, majd klasszikus és molekuláris módszerekkel azonosítottuk. Az eddigi vizsgálatok alapján a tünetekért felelős kórokozó a *Brenneria* nemzetségbe tartozik. Az elmúlt években megjelent publikációk és a szakirodalmak is tanúsítják a *Brenneria* és *Lonsdalea* nemzetség kórokozóinak térhódítását, terjedését. Növekszik a gazdanövények száma, az előfordulásuk egyre gyakoribb. Ez többek között a kedvező klimatikus tényezőknek, illetve a városi környezetbe ültetett, sok stressz tényezőnek kitett díszfák könnyebb támadhatóságának köszönhető. Annak érdekében, hogy megvédjük értékes díszfáinkat, fontos lenne pontosan azonosítani a kórokozókat, gazdanövényeiket, megismerni a terjedésük módjait és a kialakuló tüneteket.

Kulcsszavak: baktérium, kéregbetegség, szil, *Ulmus* spp., váladékfolyás

Bevezetés

Hazánkban őshonos szilfajok a mezei, a hegyi és a vénic-szil (Németh és mtsai, 2016), de ezeken túl még találkozhatunk más fajokkal is. A nemzetség alkalmazkodóképességét bizonyítja,

hogy fajai különféle élőhelyeken fordulnak elő (Turcsányi, 2005). Természetes körülmények között gyakran előfordulnak középhegységeken, dombvidékeken és folyók mentén elhelyezkedő ligeterdőkben egyaránt (Németh és mtsai, 2016). Díszfaként parkokba, közterületekre ültetik, illetve a sokak számára csodasövényként ismert turkesztáni szilt és a kislevelű mezei szilt sövényként alkalmazzák (Gentischer, 2010; Schmidt, 2006). A szilfajok közül a mezei szil faipari felhasználása a legjelentősebb, de felhasználják a hegyi és a vénic-szilt is. Készítenek belőlük fajtátekákat, dísztárgyakat, parkettát, hokiütőt, kisebb bútorokat, valamint hajóelemeket (Németh és mtsai, 2016). A közterületek, parkok szilfái ki vannak téve az abiotikus és a biotikus tényezőknek egyaránt. 2013 óta feltűnő tünetegyüttesre figyeltünk fel: a szilfák (*Ulmus* spp.) törzsén kisebb-nagyobb kéregrepedésekre, valamint azokból – esetenként akár több méter hosszan – szivárgó világosbarnás színű, habzó váladékfolyásra (1. ábra).



1. ábra. Tüneteket mutató szilfák Kecskeméten és Budapesten
(Fotó: Karacs-Végh A., Tenorio-Baigorria I.)

A tünetek hasonlítottak a *Brenneria* és *Lonsdalea* fajok által okozott tünetekre. Ezek a baktériumfajok a fák törzsén és ágain szabálytalan alakú, különböző méretű repedéseket, rákos sebeket (Wilson és mtsai, 1957), valamint a sebekből és kéregrepedésekből sötétbarna vagy feketés, vízszerű vagy pépes állagú váladékfolyást okoznak (Saccardi és mtsai, 1998). A *Brenneria* nemzetségnek hét faja (*B. salicis*, *B. nigrifluens*, *B. rubrifaciens*, *B. alni*, *B. goodwinii*, *B. roseae*, *B. populi*), a *Lonsdalea* genusznak egy faja (*Lonsdalea quercina*), illetve annak öt alfaja ismert (*L. q. pv. lupinicola*, *L. q. subsp. quercina*, *L. q. subsp. iberica*, *L. q. subsp. britannica*, *L. q. subsp. populi*). Tudomásunk szerint Magyarországon eddig az alábbi *Brenneria* fajok kerültek leírásra: fűzfáról a *Brenneria salicis* (Németh és mtsai, 1999; Végh és mtsai, 2015), közönséges dióról és platánról a *Brenneria nigrifluens* (Végh és mtsai, 2013; Végh és

mtsai, 2016), nyírfáról a *Brenneria alni* (Tenorio-Baigorria és mtsai, 2017). Továbbá hazánkban számoltak be elsőként a *Lonsdalea quercina* subsp. *populi* megjelenéséről nyárfán (Tóth és mtsai, 2013). Munkánk során célul tűztük ki a szilfák kéregrepedéseiért és nyálkafolyásáért felelős kórokozó azonosítását, jellemzését és rokonsági viszonyainak feltérképezését.

Anyag és módszer

2013-ban, Budapesten mintát gyűjtöttünk egy közterületen található szilfáról, valamint 2014-ben egy Kecskemét mellett elhelyezkedő szilfaerdő több fájáról. Azokról a fákról vettünk mintát, amelyeken már messziről látható, bőven szivárgó, barnás színű váladékfolyást figyeltünk meg, amely a kisebb-nagyobb kéregrepedésekből indult meg. Minden mintát a Szent István Egyetem Kertészettudományi Karának Növénykórtani Tanszékére szállítottunk, majd 2016 és 2017 között klasszikus és molekuláris módszerekkel vizsgáltunk, melyekhez négy izolátumot használtunk fel (1. táblázat).

1. táblázat. A vizsgálatok során felhasznált izolátumok

Gyűjtési			
Izolátumkód	hely	Gyűjtési idő	Gyűjtő
BG1B	Budapest	2013	Némethy Zsuzsanna
Szil1	Kecskemét	2014	Karacs-Végh Anita
Szil2	Kecskemét	2014	Karacs-Végh Anita
Szil3	Kecskemét	2014	Karacs-Végh Anita

A mintákat a Tanszék laboratóriumában King B táptalajra (King és mtsai, 1954) szélesztettük, majd tiszta tenyészetbe hoztuk. Az izolált baktériumok biokémiai tulajdonságait API 20E gyorstesztrel, Gram-tulajdonságát 3%-os kálium-hidroxid segítségével határoztuk meg. Ez utóbbi során egy csepp kálium-hidroxidot tárgylemezen vegyítettünk 1-1 baktérium kolóniával (24 órás, tiszta tenyészet). Emellett vizsgálatuk azt is, hogy dohánynövény (*Nicotiana tabacum* L. cv. Xanthi) levelén okoznak-e hiperszenzitív reakciót, melyhez baktérium szuszpenziót (5×10^7 sejt/ml) készítettünk 24 órás, tiszta tenyészetből. A szuszpenziót a dohánynövények levelébe juttattuk, steril fecskendők segítségével. Kontrollnak saját *Erwinia amylovora* izolátum szuszpenzióját használtunk. Minden izolátumunkkal elvégeztük a patogenitási tesztet, amelyhez a szil fásdugványokat szintén 5×10^7 sejt/ml töménységű baktérium szuszpenzióval inokuláltuk.

Kontrollnak steril desztillált vizet használtunk. A tünetek kialakulását a fertőzést követően három hónappal értékeltük.

A klasszikus vizsgálatokat követően molekuláris módszerekkel azonosítottuk a tünetekért felelős kórokozókat. A PCR során a baktériumok 16S rRNS kódoló régióját (1300 bp) 63F és 1389R primerek segítségével emeltük ki és szaporítottuk fel. A PCR termékeket ligáltuk, majd *E. coli* DH5α baktériumtörzsbe transzformáltuk. A minipreparátumok tisztítását követően meghatároztattuk nukleotid sorrendjüket. Szekvenciáinkat összevetettük az NCBI adatbázisban elérhető, különböző gazdanövényekről származó *Lonsdalea* és *Brenneria* fajok izolátumaival, illetve a hazánkban jelen lévő *Brenneria* fajok és a *Lonsdalea quercina* subsp. *populi* szekvenciáival. A rendelkezésre álló szekvenciákból a CLC Genomics Workbench 7.6. és CLC Main Workbench 7.8.1. programcsomagok segítségével páronkénti összehasonlítást végeztünk és törzsfát készítettünk.

Eredmények és értékelésük

2013 – 2014-ben szilfák törzsén világosbarnás, habzó váladékfolyást figyeltünk meg a kéregrepedésekből és a sebekből, sérülésekből. A tünetek hasonlítottak a hazánkban korábban fűzfáról (*Brenneria salicis*), dióról, platánról (*Brenneria nigrifluens*), nyírfáról (*Brenneria alni*) és nyárfáról (*Lonsdalea quercina* subsp. *populi*) izolált kórokozók által okozott tünetekre. A feltűnő váladékfolyást mutató szilfákról mintát gyűjtöttünk, melyeket a SZIE KERTK Növénykórtani Tanszékének Laboratóriumában klasszikus és molekuláris vizsgálatoknak vetettük alá. Miután tiszta tenyészeteket állítottunk elő, megállapítottuk, hogy a telepek minden izolátumunk esetén (BG1B, Szil1, Szil2, Szil3) egységesen sima felületűek, ép szélűek és fehéres színűek voltak, enyhén kékes árnyalattal. A dohánynövények levelein egyik izolátum sem váltott ki hiperszenzitív reakciót. Gram-tulajdonságukat tekintve mind a négy izolátum Gram negatív. Az izolátumok biokémiai tulajdonságait meghatároztuk. Pozitív reakciót adtak: β-galaktozidáz, citrát-hasznosítás, triptofán-deamináz, acetoin termelés, valamint glükóz, mannit, inozit, szorbit, ramnóz, szacharóz, melibióz, amygdalin és arabinóz vizsgálatokban. A további reakciókban negatív eredményeket kaptunk: arginin-dihidroláz, lizin-dekarboxiláz, ornitin-dekarboxiláz, ureáz, H₂S termelés, indol termelés, zselatináz. Az izolátumok biokémiai tulajdonságai megegyeztek. A patogenitás vizsgálatakor három hónappal a fertőzést követően értékeltük a szilfákon kialakult tüneteket: a levelek hervadását, barnulását, végül a hajtások teljes száradását figyeltük meg, és a kórokozót sikeresen visszaizoláltuk. A kontroll növények esetében nem tapasztaltunk elváltozást.

A molekuláris vizsgálatok során vizsgáltuk a 16S rRNS génszakaszt, amelynek eredményeként 1300 bázispár hosszú termékeket kaptunk. A szekvenciák (NCBI adatbázisból származó és saját izolátumok) alapján készített törzsfán, illetve a páronkénti összehasonlítás eredményei szerint izolátumaink (BG1B, Szil1, Szil2, Szil3) 99,92-100%-os azonosságot mutatnak egymással. Izolátumaink a legnagyobb hasonlóságot kocsányos tölgyről származó *Brenneria goodwinii* faj izolátumaival (JN544202 - Egyesült Királyság; KF749372 - Kína) mutattak (97,17-98,11%). Szilről származó izolátumaink a hazai, dióról (HF936707), fűzről (HG518658) és platánról (LN875278; LN875279; LN875280; LN875281; LN875282) származó izolátumokkal 95,94-96,49%-ban azonosak. Szilfákról gyűjtött izolátumaink emellett közeli rokonságban állnak (96,86-97,56%) egyéb, nyárfáról, dióról és csertölgyről származó *Brenneria* fajokkal (KF817711 - Kína; FJ611885 - Amerikai Egyesült Államok; KJ461671 - Egyesült Királyság) is.

Az eddig elvégzett klasszikus és molekuláris vizsgálatok eredményei alapján megállapíthatjuk, hogy szilfákon kéregrepedést és váladékfolyást okozó baktériumok a *Brenneria* nemzetségbe tartoznak, és a legközelebbi rokonságot a *Brenneria goodwinii* fajjal mutatják. A kórokozók pontosabb, fajsztípusú azonosításához további vizsgálatok elvégzése szükséges (API 50CH gyorseszteszt, háztartási gének vizsgálata, stb.). Kutatásunk újszerűsége, hogy a szilfákon még nem került leírásra kéregrepedést és nyálkafolyást okozó *Brenneria* baktériumfaj. Továbbá a szil (*Ulmus* spp.) lehet az újabb gazdanövénye a *Brenneria goodwinii* baktériumfajnak, melyet eddig csak tölgyről (*Quercus* spp.) izoláltak. A jövőben fontosnak tartjuk a díszfákat fertőző újabb baktériumfajok megismerését, további gazdanövényeik és elterjedtségük felmérését. Mindezek ismerete szükséges ahhoz, hogy a közterületeken, parkokban és útsorfaként ültetett, értékes díszfáink védelmét ki tudjuk dolgozni, a kórokozók továbbterjedését meg tudjuk akadályozni.

Köszönetnyilvánítás

A projektet a „Posztdoktori kiválóság program -PD 121062” pályázat támogatta.

Hivatkozások

- Bartha, D. 1999. Magyarország fa- és cserjefajai. Mezőgazda Kiadó. 197-203.
Gentischer, G. 2010. Szilfák 5 nemzetsége: kocsikeréktől az ágyúaltápig.

- King, E., O., Ward, M., K., Raney, D., E. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 44. 301-307.
- Németh, J., Csonka, I., Szabó, L. 1999. *Erwinia salicis* okozta fapusztulás fehér fűz állományban. 45. Növényvédelmi Tudományos Napok. Budapest. 119.
- Németh, R., Bak, M., Börcsök, Z. 2016. A mezei szil faanyagának jellemzői. *Erdészeti Lapok* CLI. évf. 11. 386-387.
- Saccardi, A., Bonetti, V., Melegatti, A., Cristanini, M. 1998. Occurrence of *Erwinia nigrifluens* on English Walnut (*Juglans regia*) in the Veneto Region (Northern Italy). *Journal of Plant Pathology* 80 1. 63-65.
- Schmidt, G. 2006. Kertészeti dendrológia. Mezőgazda Kiadó. Budapest. 101-102.
- Tenorio-Baigorria, I., Végh, A., Galambos, N., Palkovics, L. 2017. A brennériás betegség megjelenése nyírfán (*Betula pendula* Roth.). 63. Növényvédelmi Tudományos Napok kiadványa. 59.
- Tóth, T., Lakatos, T., 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.
- Turcsányi, G. 2005. Növénytan. 1815.
- Végh, A., Tóth, A., Zámbo Á., Borsos, G., Palkovics, L. 2013. A dió (*Juglans regia* L.) kéregrepedése, feketefolyása: új baktériumos betegség Magyarországon. *Növényvédelem* 49 9. 397-401.
- Végh, A., Soós, I., Palkovics, L. 2015. A *Brenneria salicis* baktériumfaj jellemzése, első hazai molekuláris azonosítása. 61. Növényvédelmi Tudományos Napok. Budapest. 55.
- Végh, A., Dávid, O., Tenorio-Baigorria, I., Némethy, Zs., Palkovics, L. 2016. A platán új baktériumos betegsége. 62. Növényvédelmi Tudományos Napok kiadványa. 45.
- Wilson, E., E., Starr, M., P., Berger, J., A. 1957. Bark canker, a bacterial disease of Persian walnut tree. *Phytopathology* 47. 669-673.