



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

***Brenneria* nemzetséghez tartozó baktériumfajok biológiai
diverzitása**

DOI: 10.54598/005550

Tenorio-Baigorria Imola

Budapest

2024

A doktori iskola

Megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola

Tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok

Vezetője: Zámboriné Dr. Németh Éva
egyetemi tanár, DSc
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Kertészettudományi Intézet,
Gyógy- és Aromanövények Tanszék

Témavezetők: Dr. Karacs-Végh Anita
egyetemi docens, PhD
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Növényvédelmi Intézet,
Növénykórtani Tanszék

Dr. Palkovics László
egyetemi tanár, DSc
Széchenyi István Egyetem, Albert Kázmér Mosonmagyaróvári Kar,
Növénytudományi Tanszék

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezetők jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

Jelölések, rövidítések jegyzéke	5
1. Bevezetés és célkitűzés	6
2. Irodalmi áttekintés	9
2.1. Ökoszisztéma-szolgáltatások a városokban.....	9
2.2. A klímaváltozás hatásai a városok és erdeink fásszárú növényeire	11
2.3. Fásszárú növények a közterületeken	13
2.3.1. Közterületek fásszárú növényeinek jellemző károsítói	13
<i>Aesculus hippocastanum</i> L. – közönséges vadgesztenye	13
<i>Betula pendula</i> Roth. – közönséges nyír	15
<i>Juglans regia</i> L. – közönséges dió	15
<i>Morus</i> spp. – eperfa fajok.....	16
<i>Platanus</i> spp. – platán fajok	17
<i>Populus nigra</i> L. – fekete nyár.....	17
<i>Salix</i> spp. – fűzfajok	18
<i>Ulmus</i> spp. – szilfajok	18
2.4. A <i>Brenneria</i> és <i>Lonsdalea</i> nemzetség rendszertani besorolása és jellemzése.....	19
2.4.1. <i>Brenneria salicis</i>	22
2.4.2. <i>Brenneria nigrifluens</i> – a dió sekély kéregrákja	23
2.4.3. <i>Brenneria rubrifaciens</i> – a dió mély kéregrákja	25
2.4.4. <i>Brenneria alni</i>	27
2.4.5. Tölgyfajokon előforduló <i>Brenneria</i> és <i>Lonsdalea</i> fajok.....	27
<i>Lonsdalea quercina</i>	32
<i>Lonsdalea britannica</i>	33
<i>Lonsdalea iberica</i>	33
<i>Brenneria goodwinii</i>	33
<i>Brenneria roseae</i>	34
2.4.6. <i>Brenneria populi</i> Hauben et al. 1998 és <i>Brenneria populi</i> Li et al. 2015	35
2.4.7. <i>Lonsdalea populi</i>	36
2.4.8. <i>Brenneria corticis</i>	37
2.4.9. <i>Brenneria tiliae</i>	37
2.4.10. <i>Brenneria izbisi</i>	38
2.4.11. <i>Brenneria bubanii</i>	38

2.4.12. További <i>Brenneria</i> és <i>Lonsdalea</i> fajok, melyek jelenleg még nem szerepelnek az elfogadott fajok listáján.....	38
<i>Lonsdalea quercina</i> pv. <i>lupinicola</i>	38
<i>Brenneria yuansilingia</i>	39
<i>Brenneria izadpanahii</i>	39
<i>Affinibrenneria salicis</i>	40
2.5. Közterületek lombhullató díszfáinak növényvédelme	40
3. Anyag és módszer.....	44
3.1. A vizsgálatok helye, ideje.....	44
3.2. A vizsgálatok anyaga.....	44
3.2.1. Izolátumok.....	44
3.2.2. Növények	46
3.2.3. Táptalajok.....	47
3.2.4. Laboratóriumi eszközök.....	47
3.2.5. Plazmid, baktériumtörzs.....	47
3.2.6. Primerek	47
3.2.7. Enzimek, kitek, egyéb vegyületek.....	49
3.3. A vizsgálatok módszerei.....	49
3.3.1. Tünetek megfigyelése	49
3.3.2. Izolálás és tenyészbélyegek megállapítása.....	50
3.3.3. Baktérium szuszpenzió előállítása	50
A kórokozók azonosítása klasszikus módszerekkel	50
3.3.4. Gram tulajdonság vizsgálata	50
3.3.5. Hiperszenzitív reakció indukáló képesség vizsgálata	51
3.3.6. Biokémiai tulajdonságok vizsgálata.....	51
3.3.7. Patogenitási teszt.....	51
3.3.8. <i>Brenneria nigrifluens</i> kórokozó gyors azonosítása zöld dión.....	52
A kórokozók azonosítása molekuláris módszerekkel.....	52
3.3.9. DNS izolálása.....	52
3.3.10. Polimeráz láncreakció	53
3.3.11. Gélelektroforézis	54
3.3.12. PCR termék tisztítása	54
3.3.13. Tisztított PCR termék klónozása.....	55
3.3.14. Nukleinsav szekvenciák meghatározása, analízise és filogenetikai törzsfák készítése	57

4.	Eredmények	59
4.1.	A kórokozók által okozott tünetek megállapítása.....	60
4.2.	Klasszikus vizsgálati módszerek eredményei.....	62
4.2.1.	Tenyészbélyegek megállapítása	62
4.2.2.	Gram tulajdonság	62
4.2.3.	Hiperszenzitív reakció	63
4.2.4.	Biokémiai tulajdonságok vizsgálata.....	63
4.2.5.	Patogenitási vizsgálat	65
4.2.6.	<i>Brenneria nigrifluens</i> kórokozó gyors azonosítása zöld dión.....	69
4.3.	Molekuláris vizsgálati módszerek eredményei.....	70
4.3.1.	Azonosítás a 16S rRNS gén vizsgálata alapján.....	70
4.3.2.	Azonosítás a háztartási gének vizsgálata alapján	73
5.	Következtetések és javaslatok.....	76
6.	Új tudományos eredmények	84
7.	Összefoglalás	85
8.	Summary	88
9.	Mellékletek	91
1.	számú melléklet: Irodalomjegyzék.....	91
2.	számú melléklet: Izolátumaink adatai, az elvégzett vizsgálatok összesítése	106
3.	számú melléklet: Filogenetikai törzsfához felhasznált izolátumok adatai – 16S rRNS génszakasz	111
4.	számú melléklet: Páronkénti összehasonlítás – 16s rRNS	112
5.	számú melléklet: Filogenetikai törzsfához felhasznált izolátumok azonosítói és NCBI génbanki azonosító számai – háztartási gének	113
6.	számú melléklet: Páronkénti összehasonlítás – háztartási gének.....	115
7.	számú melléklet: A <i>Brenneria</i> nemzetségbe tartozó kórokozók általunk meghatározott génszakaszainak génbanki azonosító számai a gazdanövények megjelölésével.....	116
10.	Köszönetnyilvánítás	117

JELÖLÉSEK, RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

<i>atpD</i>	ATP synthase β subunit (ATP szintáz β alegység)
AOD	Acute Oak Decline (akut tölgy leromlás)
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
bp	bázispár
CFU	Colony Forming Unit (kolónia formáló egység)
DNS	deoxiribonukleinsav
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
<i>gyrB</i>	DNA gyrase β subunit (DNS giráz β alegység)
HR	hiperszenzitív reakció
IDT	Integrated DNA Technologies
<i>infB</i>	Initiation translation factor 2 (transzlációs iniciációs faktor 2)
IUCN	International Union for Conservation of Nature (Természetvédelmi Világszövetség)
KOH	kálium-hidroxid
LB	Luria Bertani
LPSN	List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature
MEA	Millenium Ecosystem Assessment (Millenium Ökosisztéma Felmérés)
MEGA	Molecular Evolutionary Genetics Analysis
MLSA	MultiLocus Sequence Analysis (MultiLókusz Szekvencia Analízis)
NCBI	National Centre for Biotechnology Information
PCR	polymerase chain reaction (polimeráz láncreakció)
rpm	revolutions per minute (percenkénti fordulatszám)
rRNS	riboszómális RNS
<i>rpoB</i>	RNA polymerase β subunit (RNS polimeráz β alegység)
U	unit (egység)

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

A magyarországi városok és települések utcáinak, közterületeinek, parkjainak kedvelt lombhullató dísfái – többek között – a platán-, fűz-, nyár-, nyír-, vadgesztenye-, szil- és eperfák. A gyors növekedésű, hosszú élettartamú, hatalmas fákat (pl.: platán fajok) évszázadok óta telepítik Európa-szerte városi parkokba dísznövényként, illetve belterületeken útsorfaként. Egyesek közülük jó várostűrő fajok, mások kevésbé, de jelenlétük mindenképpen pozitívan hat a környezetükre, így az emberekre is, amelyeket összefoglaló néven ökoszisztéma-szolgáltatásokként említenek a szakirodalomban. Négy fő csoportba sorolhatóak a szolgáltatások, melyeket a környezetünkben élő növények biztosíthatnak számunkra: ellátó-, szabályozó- és fenntartó-, támogató-, valamint kulturális szolgáltatások. Azonban a városi fák által nyújtott ökoszisztéma-szolgáltatásokat jelentősen befolyásolják a klimatikus viszonyok változásai, amelyek hatására romlik a kondíciójuk, ezáltal ellenállóképességük a biotikus és az abiotikus tényezőkkel szemben. A legrosszabb helyzetben talán az útsorfák vannak, mert szinte mindenhol szorosan körbe vannak véve betonnal, és a kis talajjal borított terület betömörödhet, kevés vizet enged át a gyökerekhez, valamint levegőtlen lesz, így kevesebb oxigénhez jutnak a gyökerek. A közterületekre ültetett dísfák ki vannak téve a sózás veszélyének is (megnő a talaj sótartalma), emellett az építkezések közelében fokozott a veszélye a munkálatok közben okozott sérüléseknek. Kondíciójuk romlása miatt a változó tényezőket is rosszabbul tolerálják, így a változékony éghajlatunk tovább nehezíti túlélésüket. Napjaink időjárása nemcsak ránk, emberekre hathat negatívan, hanem a növényekre is, annyi különbséggel, hogy nekünk könnyebb dolgunk van, tehetünk azért, hogy elviselhetőbbek legyenek az adott körülmények. Ezzel ellentétben a növények ki vannak szolgáltatva a különböző környezeti tényezőknek, amelyekhez nem, vagy nehezen tudnak alkalmazkodni. A gyengülő kondíció és a különböző sérülések hozzájárulnak a kórokozók megtelepedéséhez és növelik a betegségek kialakulásának veszélyét.

A kétévente megjelenő 'Közterületi Sorfák Jegyzéke' összefoglalja az út- és utcafásításra alkalmas fásszárú növényfajokat és -fajtákat, részletezve azok főbb jellemzőit, többek között a várostűrő képességüket, legjelentősebb károsítóikat, mészférékenységüket. A 2022-ben megjelent listán a jó várostűrősű fajok között szerepel az *Acer* fajok egy része, *Celtis* fajok, a *Corylus colurna*, *Crataegus* fajok, *Fagus* fajok, néhány *Fraxinus* faj, a *Ginkgo biloba*, *Gleditsia triacanthos* fajták, a *Koelreuteria paniculata*, a *Liquidambar styraciflua*, *Pyrus* fajok, a *Robinia pseudoacacia*, a *Styphnolobium japonicum* (syn. *Sophora japonica*), *Sorbus* fajok és az *Ulmus pumila*. A Közterületi Sorfák Jegyzékében szereplő növényfajok harmada tartozik a gyenge várostűrősű kategóriába, és előfordulhat, hogy idővel ugyanaz fog történni velük, mint a

közönséges vadgesztenyével. Az *Aesculus hippocastanum* néhány éve lekerült a listáról, a nemzetséget már csak az *Aesculus x carnea* 'Briotii' képviseli. A faj az International Union for Conservation of Nature (IUCN) vörös listáján is szerepel, mint veszélyeztetett faj, és ennek fő oka a vadgesztenyelevél-aknázómoly károsítása. A közterületek és parkok lombhullató fáin előforduló és kéregbetegséget okozó baktériumfajok jelenléte pedig tovább rontja a helyzetet – hatékony növényvédelmi kezelések híján. A kéregrepedés, nekrózis, rákosodás, valamint a felnyíló sebekből jellegzetes sötét, feketés vagy barnás színű baktériumnyálka szivárgás jellemző tünetei a *Brenneria* és *Lonsdalea* nemzetség baktériumfajainak, melyek széles körben elterjedt kórokozók a világon. A *Brenneria* nemzetség jelenleg 11 fajt foglal magába (*B. alni*, *B. bubanii*, *B. corticis*, *B. goodwinii*, *B. izbisi*, *B. nigrifluens*, *B. populi*, *B. roseae*, *B. rubrifaciens*, *B. salicis*, *B. tiliae*), a *Lonsdalea* nemzetség pedig négy fajt (*L. britannica*, *L. iberica*, *L. populi*, *L. quercina*). Több fajukról is beszámoltak már Európában, többek között Nagy-Britanniában, Belgiumban, Hollandiában, Franciaországban, Olaszországban, Spanyolországban, vagy Szerbiában. A két nemzetség baktériumfajait emellett számos növényfajról izolálták, például *Alnus*, *Ficus*, *Juglans*, *Populus*, *Salix*, *Tilia* és *Quercus* fajokról. *Brenneria* és *Lonsdalea* fajokat hazánkban is leírtak, mostanáig négy baktériumfajt azonosítottak: dión és platánon a *Brenneria nigrifluens*, fűzfán a *Brenneria salicis*, dión és hibrid nyárfán a *B. bubanii* illetve szintén hibrid nyárfán a *Lonsdalea populi* baktériumfajt, melyek hasonló tüneteket okoznak. A *Brenneria* és *Lonsdalea* baktériumfajok jelenléte hazánkban fokozza a közterületek növényvédelmének problémakörét. A kórokozók elsősorban az idősebb fákat támadják, amelyeknek kezelése nehezen vagy egyáltalán nem megoldható. Egyrészt, mert nem áll rendelkezésre a baktériumok ellen közterületeken engedélyezett, hatékony növényvédő szer, emellett a kezelések időpontját tekintve csak az esti vagy az éjszakai órákban végezhetőek – a lakosság megfelelő tájékoztatását követően (43/2010. (V.23.) FVM rendelet a növényvédelmi tevékenységről). Másrészt, fontos lenne a baktériumok terjedését megakadályozni a fák metszésekor, a higiénés rendszabályok betartásával, például az eszközök fertőtlenítésével, de ez lassíthatja a munkálatokat, és a metszést végző dolgozók rutinjának módosítása szükséges hozzá.

Magyarországon a dió és a lombhullató díszfák bakteriális eredetű kéregbetegségei a kevésbé kutatott területek közé tartoznak, valamint kevés hazai tapasztalat, vizsgálat áll rendelkezésre a *Brenneria* nemzetségbe tartozó baktériumfajokkal kapcsolatosan. Ezért munkánk során a következő célokat tűztük ki:

1. Az ország különböző pontjain található közterületek, parkok lombhullató díszfáin és diófáin megjelenő, kéregbetegséget okozó baktériumfajok izolálása, azonosítása klasszikus és molekuláris módszerekkel,

2. A *Brenneria* nemzetségbe tartozó izolátumok rokonsági viszonyainak elemzése, a hazai izolátumok összehasonlítása a National Centre for Biotechnology Information (NCBI) adatbázisban rendelkezésre álló külföldi izolátumokkal.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. ÖKOSZISZTÉMA-SZOLGÁLTATÁSOK A VÁROSOKBAN

Az ökoszisztéma-szolgáltatások tanulmányozása fontos kutatási területté vált a 2000-es évektől kezdődően (Fischer et al. 2009). Ezt elősegítette 2001-től az ENSZ kezdeményezése, a Millenium Ökoszisztéma Felmérés (Millenium Ecosystem Assessment, MEA), amelyben hangsúlyozták az ökoszisztéma-szolgáltatások, és kutatásuk fontosságát az emberi jóllét és a fenntartható fejlődés érdekében (MEA 2003). Az ökoszisztéma-szolgáltatások fogalmának számos meghatározása ismert, de abban megegyeznek, hogy a fogalom a természeti és társadalmi rendszer határán helyezkedik el (Kovács et al. 2011). A MEA által megfogalmazott definíció szerint ezek a szolgáltatások olyan előnyöket jelentenek, amelyeket az emberek az ökoszisztémáknak köszönhetően élvezhetnek. Ide tartoznak például:

- ↳ az *ellátó szolgáltatások*, mint például az élelmiszer, a fa, az élelmi rostok, az egyéb rostanyagok (pl. gyapjú), a gyógyászati alapanyagok, az üzemanyag és a víz,
- ↳ a *szabályozó és fenntartó szolgáltatások*, mint például az árvizek, az éghajlat, a mikroklíma, a talajromlás és a betegségek szabályozása, a pollináció (beporzás), az árnyékolás, a zaj- és talajdegradáció elleni védelem,
- ↳ a *támogató szolgáltatások*, mint például a talajképződés, a fotoszintézis és a tápanyagok körforgása,
- ↳ a *kulturális szolgáltatások*, mint például a rekreációs (pl. sport, turizmus), a spirituális, az esztétikai és az egyéb (pl. oktatás, kutatás) nem anyagi javak (MEA 2003, Kisné Fodor et al. 2021).

Az említett ökoszisztéma-szolgáltatások közül számtalan jelen van a magyarországi városokban, hozzájárulva ezzel az ott élő emberek jóllétéhez. 2021-ben a Városi Szakértői Munkacsoport készített egy átfogó tanulmányt a városi ökoszisztéma-szolgáltatásokról, amelyben a városi ökoszisztémán belül az élővilág szerepére fókuszáltak. Az értékelés és térképezés során figyelembe vették a települések felépítését és élettevékenységét, hiszen ezek több szempontból is hatással lehetnek, illetve megváltoztathatják a városok és azok környezetének állapotát. További értékelési tényező volt a települési zöldinfrastruktúra, amely számos ökoszisztéma-szolgáltatást biztosíthat. Megállapították, hogy a városi környezetben a légszennyezettség kisebb – a nagymértékű szállópor-megkötés miatt – és a mikroklíma is jóval kedvezőbben alakul (hűvösebb) a zöldfelületeknek köszönhetően. Ez utóbbi jobban érvényesül a nagyobb területű és

fajgazdagságú parkerdőkben, ahol egyéb szolgáltatások is megjelennek, mint például a rekreációs- és esztétikai javak (Kiss et al. 2021a).

Továbbá, 2021-ben készült egy természetvédelmi kiadványsorozat is, mely az Agrárminisztérium által irányított, 2016-ban megkezdett projekt eredményeit foglalja össze. A Nemzeti Ökoszisztéma-szolgáltatások Térképezése és Értékelése Projekt (NÖSZTÉP) egyik fő célja bizonyos, nagy jelentőségű ökoszisztéma-szolgáltatások tanulmányozása volt, melyekhez a vizsgálatokat és értékeléseket külön munkacsoportok végezték el. A 'Természet a betonrengetegben' című kiadványban említést tesznek a városklíma-jelenségről, amely magában foglalja a felszínborítás változásait, a beépítettség és különböző méretű építmények, valamint a hőkibocsátás következményeit (Kiss et al. 2021b).

Mindezek hatására a város klimatikus viszonyai változnak, többek között a széljárás, a páratartalom vagy a hőmérséklet. A városokban azok az ökoszisztémák tudják az optimális szolgáltatásokat biztosítani, amelyek megfelelő állapotban vannak, így az embereknek törekedniük kell ennek az állapotnak a megőrzésére, leromlás esetén az eredeti állapot visszaállítására. A városi környezetben megjelenő ökoszisztéma-szolgáltatások többek között a mikroklima szabályozása – az árnyékolás és a párologtatás által –, a csapadékvíz visszatartása, a légszennyezés csökkentése, a zajvédelem, valamint helyet biztosítanak a rekreációhoz, pihenéshez (Kiss et al. 2021b). A nagyobb összefüggő zöldfelületek, parkok a városokban jelentős hatással vannak a levegő minőségére. Nemcsak a levegő szennyezőanyag koncentrációját csökkentik, hanem befolyásolják a helyi léghőmérsékletet és ultraviola sugárzást, valamint csökkentik az üvegházhatású gázok koncentrációját is (Nowak és Heisler 2010).

A városi zöldfelületek (parkok, erdők, közterületek, zöldtetők, patakok, közösségi kertek) emellett esszenciális ökoszisztéma-szolgáltatásokat nyújtanak: többek között elősegítik a fizikai aktivitást, a lelki jóllétet, befolyásolják a mindennapi hangulatot és hozzájárulnak a város lakóinak általános egészségéhez (Wolf 1998, Wolch et al. 2014). Egy tanulmányban megállapították, hogy a zöldfelületek ökoszisztéma működésének (kulturális szolgáltatások) milyen hatásai vannak az ott élő emberekre:

- területi mintázatok az ökoszisztémán belül: nagyobb térhasználat, amely gyermekek esetén eltérő,
- a helyi lakosok (különböző alpopulációk) között létrejövő szorosabb kapcsolatok (felnőtt-gyermek interakció, társadalmi interakciók és kapcsolatok),
- az erőforrások áramlása az ökoszisztémán belül (nagyobb erőforrás-megosztás),

- nagyobb a lakosok ellenállóképessége a betörésekkel és külső fenyegetésekkel szemben (kevesebb graffiti és bűnözés, nagyobb biztonságérzet).

Tehát, a fák és a jól karbantartott füves területek jelenléte kellemes, barátságos, jól használható közeget biztosít az ott élő embereknek, akik ennek köszönhetően szorosabb kapcsolatot ápolnak egymással is (Kuo 2003).

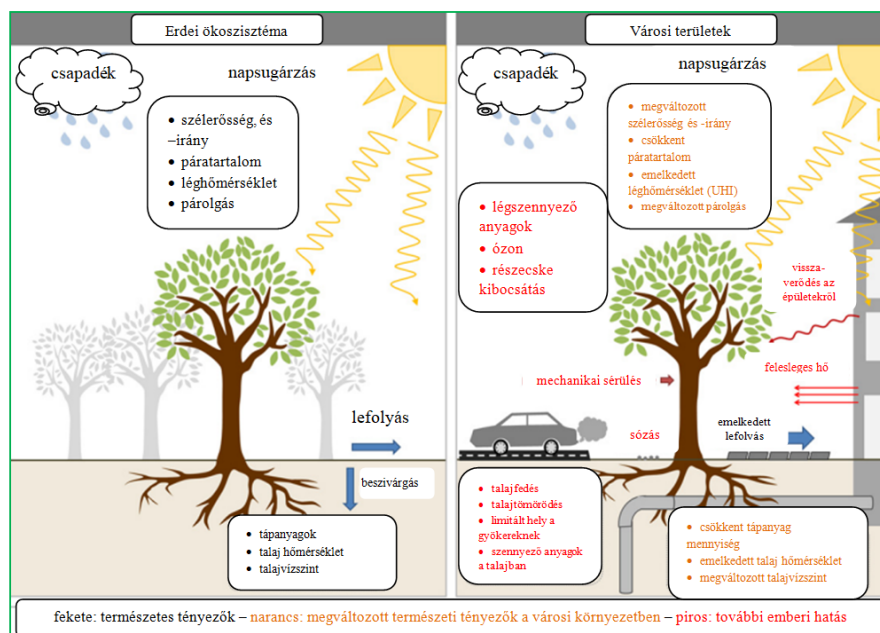
A városi környezetben élő fásszárú növények szerepe rendkívül szerteágazó. Egészségi állapotuktól függően nagymértékben hozzájárulnak többek között a hőmérséklet és a páratartalom szabályozásához, a zajártalom és légszennyezettség csökkentéséhez, mérsékelik a szél erejét, valamint gyökerek talajvédő funkciója is jelentős (Szabó 2018). A parkok, zöldfelületek növényei többet jelentenek, mint a „város tüdeje” vagy „szennyezőanyag tisztítók”. Befolyásolják emellett a mindennapi hangulatot, tevékenységeket és a mentális egészséget, vagyis pszichológiai és szociális előnyöket is szolgáltatnak a városban élő embereknek (Wolf 1998).

2.2. A KLÍMAVÁLTOZÁS HATÁSAI A VÁROSOK ÉS ERDEINK FÁSSZÁRÚ NÖVÉNYEIRE

A már korábban említett városi klíma változásához nagyban hozzájárul az úgynevezett városi hősziget jelenség (urban heat island, UHI), amely a város és az azt körülvevő területek közötti hőmérséklet különbségét jelenti és az egyik legnyilvánvalóbb következménye az ember környezetre való hatásának (Landsberg 1981, Peng et al. 2012, Bartholy et al. 2013, Hoyk 2018). Ezek a változások olyan következményekkel járhatnak, mint a nyári hőmérséklet megemelkedése, az anticiklonok kialakulási esélyének növekedése, amely utóbbi a levegő magas szennyezőanyag koncentrációjához, illetve tartós hőhullámokhoz vezethet. Az említett hatások enyhítésében jelentős szerepe van a fásszárú növényeknek (Mika 2012). A szén-dioxid felhasználásával – ami egy kulcsfontosságú üvegházhatású gáz –, egy természetes folyamat részeként a fák jelentős szénelnyelők, és a szén megkötésével pedig mindenki javát szolgálják. Emellett a fák csökkentik a heves esőzések és áradások hatását, illetve a városi hősziget hatását egyaránt (Forestry Commission 2010, Coder 2011).

A klímaváltozás városi fákra gyakorolt hatásaival kapcsolatban számtalan hazai és külföldi publikáció jelent meg. A klimatikus viszonyok változása veszélyezteti a városi fák egészségi állapotát és túlélését, valamint a különböző ökoszisztéma-szolgáltatásokat, amelyek a város lakóinak javára válnak (1. ábra). Egy 2022 őszén megjelent tanulmányban 78 ország 164 városának a hőmérséklet- és csapadékviszonyait mérték fel, amelyek már meghaladják a régióra jellemző értékeket. Több, mint 3000 fa- és cserjefajt vizsgáltak, expozíció (kitettség) és kockázat

szempontjából, biztonsági ráhagyással. Becsléseik szerint 2050-re a vizsgált fa- és cserjefajok 76%-át, illetve 70%-át veszélyezteti az éves középhőmérséklet és csapadékmennyiség előrejelzett változása, köztük olyan fajokkal, mint a tölgyek, juharok, nyárfák, szilek, fenyők, hársfák, akáciák, eukaliptuszok és gesztenyefák, amelyek világszerte megtalálhatóak a városi környezetben. A kockázat az előrejelzéseik szerint az alacsony szélességi körökben lévő városokban (pl. Szingapúr, Újdelhi) a legnagyobb, ahol minden városi fafaj érzékeny az éghajlat változásaira (Esperon-Rodriguez et al. 2022).



1. ábra: Külső hatások, amelyek a városi fákat érik - az erdei fákhöz képest (Brune 2016 nyomán)

A városi környezetben élő növényfajok számtalan tényezőnek vannak kitéve, néhány példát említve: talajtömörödés, minimális talajtérfogat, talaj- és légszennyezettség, sózás, magas hőmérséklet, mechanikai sérülések, vandalizmus, nagyobb lokális széllekedések, megváltozott talajvíz elérhetőség, alacsony ásványianyag-tartalmú talaj, vízhiány, szárazságstressz (Benedikz et al. 2005, Sæbø et al. 2005, Wittig 2008, Böll et al. 2014, Forman 2014, Schmidt 2014). Pretzsch és munkatársai (2017) kutatásukban a városi fák növekedési ütemét vizsgálták a vidéki fák növekedéséhez viszonyítva, világszerte több nagyvárosban. Eredményeik szerint a városi környezetben élő fásszárúak földalatti és földfeletti térbeli kiterjedése – a vidéki fákhöz képest – nőtt, ami emelkedett szénmegkötést is jelent. A növekedés felgyorsulása viszont egyben a növények korábbi előregedésével jár, így korábban lesz szükség a pótlásukra.

Az invazív károsítók egyre növekvő száma arra figyelmeztet, hogy a klímaváltozás és globalizáció hatására olyan változások indulnak meg, amelyek veszélyeztetik az európai erdőket

(Freer-Smith és Webber 2017). Továbbá a klimatikus viszonyok változása érinti a már jelen lévő kórokozókat és kártevőket, azok fejlődésmenetét és túlélését, valamint természetes ellenségeiket, „versenytársaikat” és vektoraikat (Tubby és Webber 2010). Az új károsítók megjelenése pedig fenyegetheti a természetes ökoszisztémát, a biodiverzitást, az erdők nyújtotta ökoszisztéma-szolgáltatásokat (rekreációs és kulturális értékek), hatással lehetnek az erdők árvízvédelmi és víztisztító képességére, emellett a fertőzés megszüntetése érdekében tett intézkedések pedig igen magas költségekkel járhatnak (Boyd et al. 2013, Freer-Smith és Webber 2017). Az 'Erdőkárok' című könyv szerzői 2013-ban arról számoltak be, hogy a magyarországi erdőkben az elmúlt 20 évben több új rovarfaj jelent meg, mint a korábbi 110 évben. Amennyiben a klíma változása ilyen ütemben folytatódik, úgy gyakrabban előforduló, komolyabb károkkal kell számolni, amit csak tetézik az a tény, hogy a körülöttünk elhelyezkedő országokban számos, nagymértékű károsításra képes faj előfordulását jelentették, fenyegetve a mi erdeinket is (Csóka et al. 2013).

2.3. FÁSSZÁRÚ NÖVÉNYEK A KÖZTERÜLETEKEN

A Magyar Díszkertészek Szövetségének gondozásában jelenik meg két évente a 'Közterületi Sorfák Jegyzéke', amely tartalmazza az út- és utcafásításra alkalmas fák várostűrő képessége mellett a növényfajok és -fajták növényvédelmi kezelési igényeit, legjelentősebb károsítóikat, allergénitását, valamint érzékenységet a mérszre, jelentős korona beavatkozásokra (Szabó 2022). A lista paraméterei évről évre folyamatosan gyarapodtak. A 2014-ben megjelent Jegyzékben hét oszlopban sorolták fel a növényekre vonatkozó, jellemző adatokat, ez 2022-re a különböző igényeknek megfelelően bővült és 16 oszlopra egészült ki (Szabó 2014, 2022).

A következő pontokban a kutatásunk során vizsgált növényfajok várostűrési és egyéb jellemzőit részletezem, köztük a legjelentősebb károsítóikat, valamint azokat a baktériumfajokat, amelyek hazánkban előfordulhatnak rajtuk.

2.3.1. *Közterületek fásszárú növényeinek jellemző károsítói*

A 2022. évi 'Közterületi Sorfák Jegyzéke' alapján a kutatásunk alapját képező növényfajok többsége a három kategória közül a közepes, illetve gyenge várostűrésű kategóriába tartozik.

***Aesculus hippocastanum* L. – közönséges vadgesztenye**

Várostűrés: gyenge (Szabó 2016)

Jelentős károsítók: *Erysiphe flexuosa* (Peck) U. Braun et S. Takamatsu – vadgesztenye lisztharmat, *Guignardia aesculi* (Peck) V. B. Stewart, anamorf: *Phyllosticta paviae* Desm. – guignardiás levélfoltosság, *Cameraria ohridella* Deschka et Dimić – vadgesztenyelevél-aknázómoly, *Eotetranychus pruni* (Oudemans) (Szabó 2016)

Növényvédelem: biztosan kezelni kell (Szabó 2016)

A vadgesztenye fajok közül egyedüli képviselőként a hússzínű vadgesztenye (*Aesculus x carnea* 'Briotii') szerepel a 2022. évi Jegyzékben, a közönséges vadgesztenye a 2016. évi Jegyzék megjelenését követő listáról lekerült (Szabó 2016). Az IUCN Vörös Listája alapján az *Aesculus hippocastanum* Európa veszélyeztetett endemikus növényfajai közé tartozik, ami az európai fajok 58 százalékát jelenti (Allen és Khela 2017). A 19. század elejétől kezdődően gyakran ültették, és a magyarországi városok egyik legjelentősebb növényfajaként volt ismert, napjainkban ültetése már nem ajánlott nagyvárosi körülmények közé, mert érzékeny a városok meleg és száraz klímájára, a légszennyezettségre és a sózásra (Schmidt és Tóth 2006, Zsigó és Polgárné Balogh 2021). A vadgesztenyefák városi túlélését két jelentős betegség és két kártevő nehezíti. A betegségek közül a levelek fonákán megjelenő, levéllemez hullámosodást és sárgulást okozó *Erysiphe flexuosa*, valamint a *Guignardia aesculi* jelentenek kihívást a közterületi növényvédelem során (Glits és Folk 2000). A leveleken egy, sárgulást és korai levélhullást okozó atkafaj is károsít, az *Eotetranychus pruni* (Oudemans), de a vadgesztenyék legjelentősebb károsítója a *Cameraria ohridella*. A lárvák a foltaknak nagy mérete és mennyisége esetén a fotoszintézis mértékének csökkenését okozzák, nyár közepére-végére akár teljes lombhullás következhet be, ami a fák esztétikai értékét is csökkenti. A fák kondíciója leromlik, egyre rosszabbul reagálnak a téli és nyári körülményekre (szárazság, fagy), illetve a városi stresszhatásokra (Tóth 1999, Gyenis et al. 2005, Csóka et al. 2013, Zsigó és Polgárné Balogh 2021). A kártevő ellen a városi környezetben a törzsinjektálás jelent védelmet (2. és 3. ábra) (Zsigó 2015).



2. ábra: Vadgesztenyefák injektálása Budapesten (fotó: Zsigó)



3. ábra: Váladékfolyás injekálás után másfél hónappal (fotó: Zsigó)

A baktériumok okozta betegségek közül a *Pseudomonas syringae* pv. *aesculi* [(Durgapal & Singh 1980) Young et al. 1991] faj első hazai megjelenését 2014-ben publikálták, hússzínű vadgesztenyékről a Gödöllői Királyi Kastély parkjában. A fákon hosszanti repedések voltak láthatóak a törzs kérgén, valamint fekélyes sebek váladékfolyással, melyek végül a fasor pusztulását okozták (EPPO 2013, Németh és Vajna 2014).

***Betula pendula* Roth. – közönséges nyír**

Várostűrés: gyenge (Szabó 2022)

Jelentős károsító: -

Növényvédelem: eddig nem kellett kezelni (Szabó 2022)

A nyírfák rosszul viselik a vízhiányt, a sózást, valamint a gyomirtó szereket, aminek oka a nem túl mélyre hatoló gyökérzet lehet (Tóth 2012). Viszont ha olyan helyre ültetik, ahol elég fényt és nedvességet kap, a talajigénye csökken, valamint a levegő szennyezettségét is tűri (Schmidt és Tóth 2006). A 2022. évben megjelent Jegyzék alapján a közönséges nyírfának nincs olyan jelentős károsítója, amely ellen növényvédelmi kezelés lenne szükséges (Szabó 2022). A leveleken néhány foltbetegséget okozó gombafaj jelenhet meg, de ezek nem járnak komoly következményekkel – például: *Venturia ditricha* (Fr.) P. Karsten (anamorf: *Fusicladium betulae* Aderh.), *Melampsoridium betulinum* (Pers.) Kleb., *Ophiognomonia intermedia* (Rehm) Sogonov (syn. *Discula betulina* (Westend.) von Arx, valamint *Phyllactinia guttata* (Wallr.) Lév. (Szabó 2001, Szabó 2003).

***Juglans regia* L. – közönséges dió**

Várostűrés: gyenge (Szabó 2022)

Jelentős károsító: *Rhagoletis completa* Cresson – nyugati dióburok-fürőlég (Szabó 2022)

Növényvédelem: valószínűleg kezelni kell (Szabó 2022)

Annak ellenére, hogy a közönséges dió dekoratív fa, parkokba való telepítését nem ajánlják, inkább házikertbe, illetve emlékművek mellé javasolják ültetését, hogy kiemelje történelmi jellegüket. Melegigényes növény, az átültetést és a metszést rosszul viseli (Schmidt és Tóth 2006). Szép formájú koronája és jó árnyékolóképessége miatt is kedvelt díszfa (Tóth 1969). A 'Közterületi Sorfák Jegyzéke' csak egy nagy jelentőségű károsítót említ, ez pedig a *Rhagoletis completa*, amelynek lárvája a termésekben fejlődik, feketedést és rothadást okozva ezzel (Voigt és Tóth 2013, Szabó 2022). A gombás betegségek közül szükséges említeni a dió levelén, hajtásán, vesszőjén és termésén ofiognomóniás betegséget okozó (*Ophiognomonia leptostyla* (Fr.) Sogonov (*Sphaeria leptostyla* Fr.)) fajt, amely korai levél- és terméshullással járhat (Glits és Folk 2000).

A dión emellett két jelentős baktériumfaj károsít: a *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* (Pierce) és a *Brenneria nigrifluens* baktériumfajok (Glits és Folk 2000, Végh et al. 2013, 2014). A xantomonászos betegség a leveleken okoz szabálytalan alakú foltokat, deformációt, valamint a termések elfeketedését (Glits és Folk 2000). A *Brenneria nigrifluens* által fertőzött diófákon kéregrepedések és sekély fekélyes sebek jelennek meg sötét színű váladékfolyással (Végh et al. 2013).

Morus spp. – eperfa fajok

Várostűrés: gyenge (Szabó 2022)

Jelentős károsító: *Pseudaulacaspis pentagona* Targioni-Tozzetti – eperfa-pajzstetű (Szabó 2022)

Növényvédelem: valószínűleg kezelni kell (Szabó 2022)

A fehér eperfát (*Morus alba* L.) a 20. század első felében gyakran ültették kisebb településeken is – terméséért, friss fogyasztásra, vagy pálinka készítésére. Igényli a fényt, és a száraz körülményeket rosszul tolerálja (Schmidt és Tóth 2006). A városok díszfáinak egyik jelentős, polifág faja a *Pseudaulacaspis pentagona*, amely jelenléte miatt indokolt lehet a növényvédelmi kezelés, mert akár az idősebb fák ágainak elhalását, valamint a fiatalabb fák pusztulását is okozhatja (Jenser et al. 1998, Tóth 1999, Schmidt és Tóth 2006, Szabó 2022).

A *Morus* fajokon hervadás, levélfoltosság, valamint baktériumnyálka is megfigyelhető a fertőzött leveleken a *Pseudomonas syringae* pv. *mori* Boyer and Lambert fertőzése következtében. A betegség előrehaladtával a fertőzött ágak elhalnak, de a fa teljes pusztulása ritkán következik be (Janse 2005).

***Platanus* spp. – platán fajok**

Vároštűrés: közepes (Szabó 2022)

Jelentős károsítók: *Corythucha ciliata* Say – platán-csipkéspoloska, *Apiognomonina veneta* (Sacc. et Speg.) Höhn. (anamorf: *Hymenula platani* Lév.) – apiognomóniás betegség, *Erysiphe platani* (Howe) U. Braun et S. Takam. – platánlisztharmat (Szabó 2022)

Növényvédelem: biztosan kezelni kell (Szabó 2022)

A platánok Európa-szerte kedvelt díszfák, hazánkban a 19. század elejétől kezdődően lettek közkedveltek, gyakran felhasználták utcafásításra. A városi környezet negatív hatásai (szózás, légszennyezettség, talajok nem megfelelő víz- és levegőtartalma), illetve a károsítók okozta elváltozások gyengítik a fákat, de ezek ellenére is javasolt a parkokba való ültetésük (Schmidt és Tóth 2006). Három jelentős károsítója van, melyek ellen a közterületeken kezelés szükséges (Szabó 2022). A *Corythucha ciliata* szívogatásának hatására a levelek elszíneződnek, majd lehullanak. Az idősebb, rossz várostűrésű platánok egészségi állapotának pedig nem tesz jót a kártétellel járó lombveszteség (Csóka et al. 2013, Zsigó 2015). Ehhez hozzájárul a platánok két jelentős gombás betegsége is: az *Apiognomonina veneta* és az *Erysiphe platani* (Glits és Folk 2000).

***Populus nigra* L. – fekete nyár**

Vároštűrés: közepes (Szabó 2022)

Jelentős károsító: *Chaitophorus leucomelas* Koch, *Ch. nassonowi* Mordvilko, *Ch. populeti* Panzer, *Ch. populialbae* Boyer de Fonscolombe (Szabó 2022)

Növényvédelem: valószínűleg kezelni kell (Szabó 2022)

A fekete nyárnak hazánkban a nedves, vizes körülmények a kedvezőek, jól viselik a légszennyezettséget és nagyobb az oxigéntermelésük, mint sok más fajnak. Gyors növekedésűek, ami korai öregedést és az ágak törékennyé válását eredményezi (balesetveszély) (Schmidt és Tóth 2006). A Jegyzékben szereplő adatok alapján, a közterületeken egy fő növényvédelmi probléma van, ami ellen szükséges lehet a kezelés, ez pedig a levéltetű (Szabó 2022). A *Populus* fajokon több levéltetű faj is károsít: *Chaitophorus leucomelas*, *Ch. nassonowi*, *Ch. populeti*, *Ch. populialbae* (Tóth 1999, Ripka 2004). A nyárfákon előfordulhat két baktériumfaj is, a kéregrákot, kéregelhalást és baktériumnyálka-folyást okozó *Xanthomonas populi* (ex Ridé) van den Mooter and Swings és a *Lonsdalea populi* (Phillips és Burdekin 1982, Szabó 2003, Tóth et al. 2013). Utóbbi kórokozóról bővebb információ a következő fejezet 2.4.7. pontja alatt található.

***Salix* spp. – fűzfajok**

Városterés: gyenge (Szabó 2014)

A fűzfajok vizes élőhelyeink jellegzetes növényei. Van olyan faj (*Salix babylonica* L.), amely már a 17. században kedvelt dísznövény volt Európában (Schmidt és Tóth 2006). Az első, 2014-ben megjelent Közterületi Sorfák Jegyzékében még szerepelt fűz faj, azt követően viszont lekerült a listáról (Szabó 2014).

A fűzfákon több gombafaj is megjelenhet, mint például a *Drepanopeziza salicis* (Tul. et C. Tul.) Höhn. (anamorf: *Trochila salicis* Tul. et C. Tul.), a *Colletotrichum salicis* (Fuckel) Damm, P. F. Cannon et Crous (anamorf: *Glomerella salicis* (Auersw. ex Fuckel) L: Holm), az *Erysiphe adunca* (Wallr.) Fr., vagy a *Melampsora* és *Venturia* fajok. A gombák okozta betegségek fellépésének leg súlyosabb következménye lehet a korai lombhullás (Szabó 2008).

A fűzfák pusztulásáért a *Brenneria salicis* (Day) Hauben et al. baktériumfaj a felelős, melyet hazánkban 1999-ben írtak le. A kórokozó tünetei: a részleges hervadás és baktériumnyálka szivárgás, végül a fa teljes pusztulása (Németh et al. 1999, Varga 2001, Végh et al. 2015). A tünetek és a baktériumfajjal kapcsolatos egyéb információk a következő fejezet 2.4.1. pontjában kerülnek tárgyalásra.

***Ulmus* spp. – szilfajok**

Városterés: gyenge és közepes (kivétel: *Ulmus pumila* 'Pusztá' - jó) (Szabó 2022)

Jelentős károsítók: levéltetű, atka (Szabó 2022)

Növényvédelem: eddig nem kellett kezelni (Szabó 2022)

Az *Ulmus* nemzetség tagjai népszerűek a parkokban, közterületeken, és azon fafajaink közé tartoznak, melyeket legrégebben kezdték ültetni, de a szilfavész pusztítása nyomán a fogékony fajok egyedeinek nagy része elpusztult (Schmidt és Tóth 2006, Bartha 2016b). A szil gutaütés vagy szilfavész kórokozói az *Ophiostoma ulmi* (Buisman) Nannf. és az *O. novo-ulmi* Brasier, amelyek a levelek hervadását, száradását okozzák az ágakon, idővel teljes koronarészek is elszáradnak. Az elszáradt ágak jellegzetessége, hogy kampószerűen visszahajlanak. A fák teljes elhalása a fertőzést követő 2–5 éven belül következhet be (Glits és Folk 2000, Jones és Benson 2001, Varga 2001, Szabó 2016). A szileken előforduló kártevők közül a Jegyzékben a levéltetveket (pl. *Aphis ulmi* L.) és az atkákat (pl. *Bryobia ulmophila* Reck) említik, mint legjelentősebb károsítókat a közterületeken (Bartha 2016a, Kotschán 2014, Szabó 2022).

2.4. A *BRENNERIA* ÉS *LONSDALEA* NEMZETSÉG RENDSZERTANI BESOROLÁSA ÉS JELLEMZÉSE

A *Gammaproteobacteria* osztályon belül az *Enterobacterales* Gram negatív baktériumfajokból álló, változatos rend, melynek tagjai fakultatív anaerob életmódot folytatnak, pálcika alakúak és nem képeznek spórát (Imhoff 2005). A rendbe tartozó baktériumfajok széles körben megtalálhatóak a környezetben, ideértve a talajban és vízben szabadon élőket, valamint azokat is, melyek növényi, állati vagy emberi gazdaszervezethez kötődnek (Imhoff 2005, Walterson és Stavrinides 2015, Adeolu et al. 2016). Az *Enterobacterales* renden belül számos klinikailag jelentős humánpatogén található meg, például a *Klebsiella pneumoniae*, amely a tüdőgyulladás és vérmérgezés gyakori kórokozója, a *Yersinia pestis*, a tüdőpestis kórokozója, valamint az *Escherichia coli*, amely a bél- és húgyúti fertőzésekért lehet felelős (Decré et al. 2011, Ochoa és Contreras 2011, Pechous et al. 2016, Terlizzi et al. 2017). Továbbá, olyan jelentős növénypatogén baktériumfajokat is ide soroltak, mint az almatermésűeket fertőző tűzelhalás kórokozója, az *Erwinia amylovora* (Burrill) (Oh és Beer 2005). 2016 előtt az *Enterobacterales* rend egyetlen családból állt (*Enterobacteriaceae*), ezt a későbbiek során felülvizsgálták, és hét családra osztották fel: *Budviciaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae*, *Hafniaceae*, *Morganellaceae*, *Pectobacteriaceae* és *Yersiniaceae* (Parte 2014, Adeolu et al. 2016, Soutar és Stavrinides 2020). Emellett egy tanulmányban javasolták az *Enterobacteriales* rend elnevezésének helyesbítését *Enterobacterales*-re, arra hivatkozva, hogy nem a nemzetközi követelményeknek (*International Code of Nomenclature of Bacteria*) megfelelően publikálták korábban (Lapage et al. 1992, Adeolu et al. 2016). Az List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) listája alapján a *Pectobacteriaceae* család jelenleg kilenc nemzetség tagjait foglalja magában, melyek a következők (Parte et al. 2020):

- *Acerihabitans* (Lee et al. 2021),
- *Biostraticola* (Verbarg et al. 2008),
- *Brenneria* (Hauben et al. 1998b),
- *Dickeya* (Samson et al. 2005),
- *Lonsdalea* (Brady et al. 2012),
- *Musicola* (Hugouvieux-Cotte-Pattat et al. 2021),
- *Pectobacterium* (Waldee, 1945),
- *Sodalis* (Dale és Maudlin, 1999) és
- *Symbiopectobacterium* (Nadal-Jimenez et al. 2022).

A felsorolt nemzetségek közül a *Dickeya* és *Pectobacterium* fajok pektinbontó, ezáltal lágyrothadást okozó baktériumfajok, melyeknek számos gazdanövényük ismert, köztük mezőgazdaságilag jelentős növényfajok is. A *Dickeya chrysanthemi* fajt a *Chrysanthemum x morifolium* kórokozójaként írták le elsőként (Burkholder et al. 1953), ezt követően számos kutatás jelent meg további gazdanövényeiről. Két áttekintő publikációban összesítették ezeket, melyek szerint 16 kétszikű növény család 11 rendjének, valamint 10 egyszikű növény család öt rendjének növényfajain képes betegséget okozni (Ma et al. 2007, Toth et al. 2011). A nemzetség egy másik ismert faja a *Dickeya dadantii*, amelynek szintén változatos a gazdanövényköre: muskátli, ananász, szegfű, édesburgonya, banán, kukorica, hogy csak néhányat említsek (Samson et al. 2005). A *Pectobacterium* nemzetségnek számos faja közül említésre méltó a *Pectobacterium atrosepticum*, amely a burgonya fekete szártőrothadását, a *Pectobacterium carotovorum*, amely fontos élelmisznő növényeink lágyrothadását okozza, valamint a *Pectobacterium betavascularum* baktériumfaj, mely egyetlen gazdanövénnyel rendelkezik, ami a cukorrépa (*Beta vulgaris* L.) (Thomson et al. 1981, Toth et al. 2011, Davidsson et al. 2013).

A következő nemzetség névadó faja első leírása óta több névváltáson is átesett, jelenleg a *Musicola paradisiaca* (syn. *Brenneria p.*, *Dickeya p.*, *Erwinia p.*) az elfogadott tudományos neve, és a banánon lágyrothadást okozó baktériumfaj (Fernández-Borrero és López-Duque 1970). A *Pectobacteriaceae* család további négy nemzetsége nem, vagy kevésbé kapcsolódik a növényekhez, így csak egy-egy mondat erejéig említem azokat. Az *Acerihabitans arboris* a nemzetség egyedüli tagja, amelyet *Acer pictum* Thunb. növényi nedvéből izoláltak (Lee et al. 2021). A *Biostraticola tofi* faj jelenleg egyedüli tagja a nemzetségnek, egy patakmenti tufa lerakódáson képződött biofilm rétegből mutatták ki 2008-ban (Verbarg et al. 2008). A *Sodalis* nemzetségnek két faja ismert: a *S. glossinidius* – egy másodlagos endoszimbiontája a cecelégynak (*Glossina morsitans morsitans*) – és a *S. praecaptivus* – egy humán páciens kezén keletkezett sebből izolálták (Dale és Maudlin, 1999, Chari et al. 2015). A *Pectobacteriaceae* család legújabb tagja pedig a *Symbiopectobacterium purcellii*, amelyet az *Empoasca decipiens* kabócafajból izoláltak (Nadal-Jimenez et al. 2022).

A *Brenneria* nemzetség nevét Don. J. Brenner amerikai mikrobiológusról kapta (Hauben és Swings 2015). A kórokozókat korábban az *Erwinia* nemzetség tagjaiként írták le, az almatermésűek tűzelhalásáért felelős baktériumfaj, az *Erwinia amylovora* (Winslow et al. 1920) közeli rokonaiként. A molekuláris biológiai módszerek előtérbe kerülésével, folyamatos változásával az elmúlt évtizedek során többször is módosultak az egyes kórokozók nemzetségnevei. A legtöbb névváltás az elsőként fűzfáról leírt fajt érintette. Day 1924-ben *Bacterium salicis*-ként publikálta, a későbbiekben említik *Erwinia amylovora* var. *salicis*,

Erwinia salicis, *Phytophthora salicis*, *Pseudobacterium salicis* és *Pseudomonas saliciperda* néven egyaránt. 1998-ban, az *Erwinia* nemzetségből molekuláris vizsgálatok alapján több kórokozót is átsoroltak a *Brenneria* nemzetségbe. Ezek a *Brenneria nigrifluens*, *B. alni*, *B. salicis*, *B. rubrifaciens* és a *B. quercina* baktériumfajok voltak (Hauben et al. 1998b).

A *Lonsdalea* nemzetség 2012-ben vált külön a *Brenneria* nemzetségtől, Brady és munkatársai (2012) javaslatára, akik egy erdészeti növénykórtannal foglalkozó szakember, David Lonsdale után nevezték el. A kutatók az akut tűlgyepusztuláshoz kapcsolódó vizsgálataik során különítették el a *Lonsdalea quercina* fajt, és azon belül három további alfajt, melyeket bővebben a későbbiekben ismertetek.

Az LPSN listája alapján a *Brenneria* és *Lonsdalea* nemzetségekhez jelenleg 15 baktériumfaj tartozik (Parte et al. 2020):

- ✱ *Brenneria alni* (Surico et al. 1996) Hauben et al. 1998b,
- ✱ *Brenneria bubanii* Tóth és Lakatos 2023,
- ✱ *Brenneria corticis* Li et al. 2019b,
- ✱ *Brenneria goodwinii* Denman et al. 2012,
- ✱ *Brenneria izbisi* Gašić et al. 2022,
- ✱ *Brenneria nigrifluens* (Wilson et al. 1957) Hauben et al. 1998b,
- ✱ *Brenneria populi* Li et al. 2015,
- ✱ *Brenneria roseae* Brady et al. 2014a,
- ✱ *Brenneria rubrifaciens* (Wilson et al. 1967) Hauben et al. 1998b,
- ✱ *Brenneria salicis* (Day 1924) Hauben et al. 1998b,
- ✱ *Brenneria tiliae* Kile et al. 2022,
- ✱ *Lonsdalea britannica* (Brady et al. 2012) Li et al. 2017,
- ✱ *Lonsdalea iberica* (Brady et al. 2012) Li et al. 2017,
- ✱ *Lonsdalea populi* (Tóth et al. 2013) Li et al. 2017,
- ✱ *Lonsdalea quercina* (Hildebrand és Schroth 1967) Brady et al. 2012.

A következő pontokban röviden bemutatom a fentebb felsorolt fajokat, ismertetve a kiváltott tüneteket, elterjedésüket, gazdanövényeiket illetve egyéb fontos információk is említésre kerülnek.

2.4.1. *Brenneria salicis*

Szinonim nevek: *Bacterium salicis* Day, *Erwinia amylovora* var. *salicis* Martin et Kocur, *Erwinia salicis* (Day) Chester, *Phytomonas salicis* (Day) Magrou, *Pseudobacterium salicis* (Day) Krasilnikov, *Pseudomonas saliciperda* Lindeijer

Angol név: watermark disease [(a német elnevezés ennek megfelelően: Wasserzeichenkrankheit (Helbig és Müller 2009))]

Gazdanövények: *Salix alba* L., *S. alba* var. *caerulea* (Sm.) Sm., *S. bakko* Kimura, *S. cinerea* L., *S. purpurea* L., *S. x fragilis* L., *S. x fragilis* var. *russelliana* (Sm.) Koch, *S. kinuyanagi* Kimura, *S. sachaliensis* F. Schmidt, *S. triandra* L., *Populus* sp., *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.

Elterjedés: Anglia (Day 1924), Belgium (Rijckaert et al. 1984), Hollandia (Lindeijer 1932), Japán (Sakamoto et al. 1999), Magyarország (Németh et al. 1999), Olaszország (Grosso et al. 2011), Irán (Basavand et al. 2021a)

A fűzfák hervadását és pusztulását okozó *Bacterium salicis* kórokozóról először Day írt 1924-ben. A baktériumfaj első leírása óta több tudományos néven volt ismert, a jelenleg elfogadott tudományos neve a *Brenneria salicis* (Hauben et al. 1998b). Magyarországon először 1998-ban találták meg Győr-Moson-Sopron megyében, klasszikus vizsgálati módszerekkel azonosították (Németh et al. 1999), majd 2015-ben történt meg a kórokozó molekuláris azonosítása (Végh et al. 2015).

A baktérium okozta tünetek súlyossága miatt a fűzfák egyik legjelentősebb betegségeként tartják számon (Sakamoto et al. 1999). Tavasszal és nyár elején, lombfakadás után jelentkeznek az első tünetek: a hajtások hervadni, száradni kezdenek, vöröses-barnás színűek lesznek (Dowson 1937, Sakamoto 2001, Bartha et al. 2008). A fa kérgén rákos sebek alakulnak ki, melyekből fehéres váladékfolyás figyelhető meg (Adegeye és Preece 1978). A fiatalabb, 10–12 éves fertőzött fák már a második évben, az idősebb fák néhány év alatt teljesen elhalhatnak (Varga 2001). A fertőzés későbbi szakaszában a rákos sebek továbbterjednek, és ha körbeérnek a fa törzsén, a felettük lévő ágrészek fokozatosan elhalnak (Németh et al. 1999, Sakamoto 2001). A fertőzött fa törzsének keresztmetszetén a faszövet foltokban, gyűrűs sávokban szürkésbarna, tinta-foltoszerű vizenyős elszíneződése látható, ami rontja a fa minőségét is (Metcalfé 1940, Phillips és Burdekin 1982, Németh et al. 1999, Sakamoto 2001, Lakatos és Szabó 2012) (4. ábra). Erről a vízzel átitatott tünetről kapta az angol „watermark disease” elnevezést a kórokozó. Egy kutatás során azt is megfigyelték, hogy a legyengült fák, amelyeken jelen volt az *Armillaria mellea* gomba, a *Brenneria salicis* kórokozóval is fertőzöttek voltak (Wong és Preece 1973).



4. ábra: *Brenneria salicis* okozta tünetek fűzfán (Lakatos és Szabó 2012)

A kórokozó elsősorban vegetatív szaporítóanyag útján terjed, melyen tünetmentesen is jelen lehet, emellett xilofág rovarok is részt vehetnek a továbbterjesztésében (Hauben et al. 1998a, Bartha et al. 2008). Dowson (1937) a patogenitási tesztek elvégzését követően megállapította, hogy sikeresen fertőződtek a két és három éves csemeték, míg a hat hónaposokon nem voltak láthatóak tünetek. Feltételezése szerint a fiatalabb fák rezisztenciával rendelkezhetnek a kórokozóval szemben.

Egy 2008-ban megjelent kutatásban a tüneteket mutató fűzállomány közelében található tünetmentes nyárfákat (*Populus* sp.), valamint mézgás égerfákat (*Alnus glutinosa*) is vizsgáltak. Megállapították, hogy a *Brenneria salicis* kimutatható koncentrációban jelen volt ezekben a fákban is (Maes et al. 2009).

2.4.2. *Brenneria nigrifluens* – a dió sekély kéregrákja

Szinonim név: *Erwinia nigrifluens*

Angol név: shallow bark canker

Gazdanövények: *Juglans regia* L., *J. nigra* L., *Ficus carica* L.

Elterjedés: Egyesült Államok (Wilson et al. 1957), Irán (Rahimian et al. 1989), Spanyolország (Lopez et al. 1994), Olaszország (Morone et al. 1998, Saccardi et al. 1998), Franciaország (Ménard et al. 2004), Szerbia (Popović et al. 2013), Magyarország (Végh et al. 2013, 2014), Törökország (Soylu et al. 2021)

1957-ben, Wilson és munkatársai számoltak be először a *Brenneria nigrifluens* kórokozóról, az Egyesült Államokban. A baktériumfaj által okozott fő tünetek a sekély, szabálytalan alakú rákos sebek voltak a törzs és az ágak kérgén, valamint az ezekből szivárgó sötétbarna, vízszerű exudátum (Saccardi et al. 1998, Yousefikopaei et al. 2007) (5. ábra).



5. ábra: Váladékfolyás és hosszanti repedések diófa törzsén (Giorcelli és Gennaro 2014)

A fiatal fákon a fertőzés kezdetén 5–20 cm nagyságú, enyhén besüppedő, hosszanti repedések figyelhetőek meg, a kéreg eltávolításával feketés csíkok láthatóak, de ezek a léziók nem hatolnak a kéreg mélyebb rétegeibe. A sötét sávok növekedéskor egybeolvadhatnak, ami hosszanti barázdák megjelenésével a törzs deformációjához vezethet. Az idősebb fákon ovális rákos sebek alakulnak ki, gyakran szivárog belőlük baktériumnyálka (Saccardi et al. 1998). A kórokozó komoly károkat okozhat a fiatal, és idős fákon is egyaránt (Morone et al. 1998, Saccardi et al. 1998, Piccirillo 2003). Továbbá a fertőzés általában fokozatos kondíció leromlással, lombhullással és a levelek korai szeneszcenciájával jár (Yousefikopaei et al. 2007). Több publikációban is beszámolnak arról, hogy a sekély kéregrákosodást okozó *Brenneria nigrifluens* és a mély kéregrákosodást okozó *B. rubifaciens* kórokozók jelenléte negatív hatással lehet a dió termésmennyiségére (McClean et al. 2008, Frutos 2010, Biosca és López 2012, Popović et al. 2013).

A *Brenneria nigrifluens* izolálása – így korai azonosítása – nehéz feladat, mivel számos egyéb, nem patogén, vélhetően szaprofita baktériumfaj van jelen a diófákon, melyekkel versengenek a tápanyagforrásokért, ezáltal nehezítik a kórokozó elkülönítését (Moretti et al. 2007). Olasz kutatók megállapították, hogy a gyakran megjelenő kisebb léziókból nem voltak kimutathatóak növénypatogén gombák. Kiemelték publikációjukban, hogy a betegség kezdetén megjelenő kisméretű léziókat a *Brenneria nigrifluens* baktériumfaj okozza, amelyet viszont minden lézióból izoláltak (Mazzaglia et al. 2006). Emellett Moretti és Buonauro (2010) kidolgoztak egy módszert a *Brenneria nigrifluens* kórokozó patogenitásának gyors, megbízható igazolására. A vizsgálat során zöld diótermések burkába injektáltak *Brenneria nigrifluens* (három izolátum), valamint hét különböző baktériumfaj (*Brenneria alni*, *Dickeya chrysanthemi*,

Erwinia rhapontici, *Ralstonia pickettii*, *Spingobacterium spiritovorum* és egy ismeretlen *Enterobacteriaceae* családba tartozó baktériumfaj) izolátumainak szuszpenzióját. A fertőzés után két nappal csak a *Brenneria nigrifluens* szuszpenzióval injektált diókon elhalást és vöröses-barnás nyálkacseppeket figyeltek meg.

A *Brenneria nigrifluens* kórokozóval kapcsolatosan számtalan publikáció jelent meg, melyekben, a legtöbb esetben a dió volt a gazdanövény. 2021-ben, Iránban azonban fügefákon (*Ficus carica* L.) hasonló tüneteket tapasztaltak – gyenge kondíciójú fák, barnás-feketés színű léziók, rákos sebek a törzsön, sötét színű váladékfolyás (6. ábra). A tüneteket mutató fákról izolálták és azonosították a *B. nigrifluens* kórokozót, mint a füge új kórokozóját (Basavand et al. 2021b).



6. ábra: Repedések és szivárgó baktériumnyálka fügén (Basavand et al. 2021b)

Egy további kutatást még szükséges említeni, amelyben „vérző rákos” („bleeding canker”) tüneteket mutató közönséges vadgesztenyefákról (*Aesculus hippocastanum* L.) gyűjtött mintákat elemeztek, hogy meghatározzák, milyen baktériumtörzsek vannak jelen a fertőzött növényanyagban. Közel 1600 vadgesztenyefáról gyűjtöttek mintát, melyekben több kórokozót is azonosítottak: a betegségért felelősnek tartott *Pseudomonas syringae* pv. *aesculi* baktériumfajt, illetve további, nem a vadgesztenyéhez kötődő fajokat: *Pseudomonas marginalis*, *P. syringae*, valamint az ismertén kéregrákot okozó *Brenneria nigrifluens* (McEvoy et al. 2016).

2.4.3. *Brenneria rubrifaciens* – a dió mély kéregrákja

Szinonim név: *Erwinia rubrifaciens*

Angol név: deep bark canker

Gazdanövények: *Juglans regia*, *J. hindsii* Jeps. ex R. E. Sm., *J. nigra*

Elterjedés: Egyesült Államok (Wilson et al. 1967), Spanyolország (González et al. 2002), Irán (Amirsardari et al. 2017), Szerbia (Ilić et al. 2021)

A dió mély kéregrákját – a sekély kéregrák mellett – olyan betegségként tartják számon, amely komoly gazdasági károkat tud okozni (Biosca és López 2012). A *Brenneria rubrifaciens* kórokozót elsőként 1967-ben, Kaliforniában írták le (Wilson et al. 1967). A fertőzött diófák törzsének, ágainak kérgén mély, hosszanti repedések láthatóak, amelyekből késő tavasztól egészen lombhullásig bőséges vöröses-barnás váladék folyik (Teviotdale és Sibbett 1982, Frutos 2010). A kéreg belső részén, a kambium mellett fekete, nekrotikus szövetek alakulnak ki, a kéreg külső felén ennek megfelelően apró, fekete lyukak láthatóak. A beteg ágrészeken jellemzően kevesebb a lomb, több sárguló levél van, és gyengébbnek mutatkoznak, mint az egészségesnek tűnő ágak (Teviotdale és Sibbett 1982) (7. ábra).



7. ábra: Mély barázdák és vörösesbarna színű exudátum kaliforniai diófákon (Teviotdale és Sibbett 1982)

A kórokozó kéregsérüléseken keresztül jut be a fádba, és rovarok, illetve rázógépek által is továbbterjedhet. A fertőződéshez hozzájárulhat az is, ha a diófák legyengültek, vagy stressznek vannak kitéve, például nem megfelelő a talaj, annak vízgazdálkodása vagy a tápanyagellátás. Egy kutatás eredményei szerint a téli időszakban történő öntözés megfelelő nedvességet biztosít, ugyanis három év alatt csökkent az aktív tüneteket mutató fák aránya (Teviotdale és Sibbett 1982). Egy 1970-ben publikált eredmény szerint a *Brenneria rubrifaciens* képes a talajban is fennmaradni egy rövidebb ideig (Shaad és Wilson 1970).

A *B. rubrifaciens* kórokozó elkülönítése kolóniák alapján a *B. nigrifluens* fajtól egyszerű, mivel egy jellegzetes, rózsaszínű pigmentet (rubrifacin) termel, amely megfesti a táptalajt

(McClellan és Kluepfel 2009). Emellett jelenleg az egyetlen faj a nemzetségen belül, amely szöveti nekrozist vált ki dohány növényen (Gardner és Kado 1976, McClellan és Kluepfel 2009).

2.4.4. *Brenneria alni*

Szinonim név: *Erwinia alni*

Angol név: alder bark canker

Gazdanövények: *Alnus glutinosa*, *A. cordata* Desf., *A. subcordata* C. A. Mey.

Elterjedés: Olaszország (Surico et al. 1996), Irán (Moradi-Amirabad és Khodakaramian 2020)

1996-ban, mézgás (*Alnus glutinosa*) és szívlevelű (*A. cordata*) égerfákról írták le először a *Brenneria alni* baktériumfajt, Olaszországban. A kórokozó kezdeti tünete a törzs és az ágak kérgén megjelenő kisméretű, hosszanti nekrotikus rákos sebek, melyek sötétbarnás-feketés színűek, szabálytalan alakúak, enyhén besüppednek, és vízszerű váladék szivárog belőlük. A fertőzés előrehaladtával a rákos seb oldalirányban terjed tovább, és a kambiumot is elérheti. Ha a seb körbeéri a törzset, az a fa pusztulásához vezethet. A tavaszi és nyári időszakban intenzívebb váladékszivárgást figyeltek meg, amely végigfut a fák törzsén, a kérget sötétbarnára vagy feketére festve (Moradi-Amirabad és Khodakaramian 2020, Surico et al. 1996) (8. ábra).



8. ábra: A *Brenneria alni* által okozott rákos seb *Alnus subcordata* törzsön (Moradi-Amirabad és Khodakaramian 2020)

2.4.5. Tölgyfajokon előforduló *Brenneria* és *Lonsdalea* fajok

Akut tölgy leromlás

Angol név: acute oak decline (AOD)

A nagy-britanniai erdészeti kutatóintézet (Forest Research) kutatói, Denman és Webber számtalan publikációt jelentettek meg a tölgy leromlás témakörében, amelyről Nagy-Britanniában már 1927-től kezdődően számolnak be *Quercus robur* L. és *Q. petraea* (Matt.)

Liebl. növényeken (Day 1927). Egy publikációjukban összefoglalták a tölgy leromlás három típusának fő jellemzőit:

- *Akut tölgy leromlás – Acute Oak Decline (AOD)*: két epidemiológiai mintázat jellemző rá. Az első szakaszban a kondíció hirtelen leromlik – ez nagyjából 5–10 éves időszak –, amit egy nagymértékű fapusztulás követ, a második szakaszban ez stabilizálódik, vagy akár meg is szűnhet. Ez a típusú hanyatlás epizodikus, és ez jellemzi az AOD-t, amelynek kórokozói baktériumfajok.
- *Krónikus tölgy leromlás – Chronic Oak Decline (COD)*: erre a típusra a tünetek (gyér lombozat, ágelhalás, időnként sötét, vízszerű folyadékszivárgás, amely végigfut a törzsön) lassú kialakulása jellemző. A tünetek fejlődése évekig, akár évtizedekig elhúzódhat, ez idő alatt a mortalitási ráta általánosan alacsony, illetve a fák részben vagy teljesen felgyógyulhatnak. A betegség kialakulásában vélhetően a gyökerek rothadását okozó gombafajoknak, valamint a szárazságnak van kulcsszerepe.
- *Hirtelen tölgy leromlás – Sudden Oak Decline (SOD)*: a betegség tipikus tünete a törzsön több pontból meginduló, feketés színű nyálkafolyás („stem bleeding”). Emellett jellemző a levelek nekrotizálódása, a hajtásvégek elhalása, végül a fa pusztulása. A tüneteket a *Phytophthora ramorum* kórokozó váltja ki, amely 1995 óta az őshonos amerikai tölgyek [*Quercus agrifolia* Née, *Q. kelloggii* Newberry, *Q. parvula* Greene var. *shrevii* (C. H. Mull.) Nixon, *Lithocarpus densiflorus* (Hook. et Arn.) Rehder] százezreinek pusztulását okozta (Denman és Webber 2009).

Nagy-Britanniában az akut tölgy leromlás jelentős gazdasági károkat okoz, a kiváltó okok között pedig vannak abiotikus és biotikus tényezők is, melyek közül eddig több gomba- és baktériumfajt is kimutattak a tüneteket mutató tölgyekből (Gibbs és Greig 1997, Denman et al. 2010, 2012). A betegség egyre több területen jelenik meg, pontos terjedési mechanizmusa még nem ismert. A beteg fák a fertőzést követő 4–5 évben teljesen elpusztulnak (Denman et al. 2010). Az AOD okozta tüneteknek négy fő jellegzetessége van: nekrotikus léziók a tölgyfák törzsén; repedések a kéreg rétegei között, amelyekből sötét színű váladék folyik; a kéreg belső részének elhalása; valamint az esetek több mint 90 százalékában az *Agrilus biguttatus* Fab. (kétpettyes karcsúdíszbogár) lárvajáratainak jelenléte a floém és a szíjács határán (Denman et al. 2014) (9. ábra).



9. ábra: Sötét színű nyálkafolyás a tölgyfákon (Denman et al. 2014)

Az első tünet, ami baktérium jelenlétére utalhat, az a törzs kérgén megjelenő feketés vagy barnás színű nyálkafolyás, amire a szakirodalomban „vérző törzs” („stem bleeding”) néven hivatkoznak. A legalacsonyabb pont, ahol a szivárgó folyadék megjelenhet, 30–50 cm, a legmagasabb pont pedig akár 15–20 méteres magasságban is lehet, de leggyakrabban 1–5 méterrel a föld felett találták ezeket (10. ábra). A betegség előrehaladtával újabb pontokból is megindul a nyálkafolyás, amit kora tavasztól (március-április) nyár elejéig (június), majd késő ősszel (október-november) figyelhető meg, a forró nyári hónapokban (júliustól szeptemberig) és télen (decembertől februárig) általában nem látható. A betegségre jellemzőek még a törzsön kialakuló repedések (3–22 cm, de általában 15 cm-nél nem nagyobbak), amelyek széle érdes, egyenetlen és elfeketedő, kialakulásuk a kéreg alatt elhelyezkedő szövetek pusztulásához köthető. A repedések esetenként kalluszosodnak és begyógyulnak, de a nyálka a későbbiekben újból előtörhet ezekből. A szivárgó pontoknak megfelelően a kéregfelszín alatt is jelen van a sötétbarna baktériumnyálka (Denman et al. 2014). A fák lombja pusztulni kezd, a krónikus tölgy leromláshoz hasonlóan, de előbbi súlyosabb és közvetlenül a fa teljes pusztulása előtt következik be (Denman et al. 2010) (11. ábra).



10. ábra: Bőséges váladékszivárgás a lombkoronában (Denman et al. 2010)



11. ábra: Pusztuló koronarészek (Denman et al. 2010)



12. ábra: az *Agrilus biguttatus* D-alakú rönnyílása (Denman et al. 2010)

Az AOD egy betegség komplex, amely kialakulásának oka a polimikrobiális kapcsolatokban keresendő. A kutatások során több új baktériumfajt, és *Agrilus* lárvajáratokat hoztak már összefüggésbe a léziókkal, de ezek egymáshoz viszonyuló kapcsolata még feltáratlan (Brown et al. 2017, Denman et al. 2018) (12. ábra). A kutatások viszont arra is rávilágítottak, hogy az akut tölgy leromlás tüneteit mutató tölgyfákról a leggyakrabban izolált kórokozók

- a *Brenneria goodwinii* Denman et al. 2012,
- a *Gibbsiella quercinecans* Brady et al. 2010,
- a *Lonsdalea britannica* Brady et al. 2012 és
- a *Rahnella victoriana* Brady et al. 2014c baktériumfajok voltak, így ezeknek bizonyosan kiemelt szerepük lehet a betegség kialakulásában (Brady et al. 2017, Sapp et al. 2016, Gathercole et al. 2021). A felsorolt fajok közül a domináns faj a *Brenneria goodwinii* az AOD patobiomban (Doonan et al. 2020).

További baktériumfajok, amelyeket összefüggésbe hoztak az akut tölgy leromlással:

- *Lonsdalea quercina*, *L. iberica* (Brady et al. 2012),
- *Brenneria roseae* subsp. *roseae*, *B. roseae* subsp. *americana* (Brady et al. 2014a),
- *Gibbsiella greigii* (Brady et al. 2014b),
- *Pseudomonas dryadis*, *P. daroniae* (Bueno-Gonzalez et al. 2019),
- *Pseudomonas kirkiae* (Bueno-Gonzalez et al. 2020).

A tölgyek leromlásában szerepet játszó kórokozók közül néhányat más növényfajokon is azonosítottak. A *Gibbsiella quercinecans* fajt például kimutatták alma- és körtéfákról – exudátumból, nekrotizálódott szövetekből és elhalt faanyagból –, rákos sebeket mutató

keskenylevelű ezüsfából (*Elaeagnus angustifolia* L.), valamint közönséges dióról (Geider et al. 2015, Basavand et al. 2021c, Firouzanbandpey és Khodaygan 2023). A *Rahnella victoriana* fajt pedig a közönséges dió, közönséges gyertyán leromlásával, illetve eukaliptuszon (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.) okozott kéregrák kialakulásával hozták összefüggésbe (Moradi-Amirabad et al. 2019, Basavand et al. 2019, Hajjaligol et al. 2023).

Abiotikus tényezők

A tölgyek AOD okozta gyors leromlásához mind a biotikus, mind az abiotikus faktorok hozzájárulnak. A helyi biotikus és a környezeti tényezők érzékennyé teszik a tölgyfákat a betegségekre (Brown et al. 2016, Bueno-Gonzalez 2022). Az abiotikus tényezők (légszennyezés, éves csapadékmennyiség, tápanyagok kiegyensúlyozatlansága, stb.) közül a szárazságot tekintik jelenleg az egyik legnagyobb problémának (Thomas et al. 2002, Sallé et al. 2014, Brown et al. 2015, Haavik et al. 2015, Brown et al. 2018, Macháčová et al. 2022). Egy iráni kutatás eredményei szerint a szárazságstressznek kitett, rossz egészségi állapotban lévő anyanövények (*Quercus brantii* Lindl.) utódai negatívan reagáltak a *Brenneria goodwinii* fertőzését követő szárazságra (csökkent növekedés, alacsonyabb relatív víztartalom a szövetekben) (Zolfaghari et al. 2022). Egy kutatásban biotikus és abiotikus kockázati tényezőkön alapuló modellt dolgoztak ki, amelynek segítségével részletes kockázati térképet készítettek Angliára és Wales-re vonatkozóan. Jelentős, fogékonyt növelő tényezőként nevezték meg Nagy-Britannia legmelegebb területeit, vízhiányos régióit, valamint nitrogén túlsúlyos térségeit. A melegedő klíma kedvezhet a lombozatot csökkentő rovarkártevőknek (*Tortix viridana* L., *Operophtera brumata* L.) – így több fény juthat be az állományba, befolyásolva ezzel a mikroklimatikus viszonyokat –, és a kétpettyes karcsúdíszbogárnak, amely az AOD-t mutató tölgyfák nagy részén jelen volt (Brown et al. 2018, Macháčová et al. 2022). Emellett a betegség azokon a területeken terjedt el, ahol kevesebb víz állt a növények rendelkezésére, és kevesebb volt az eső mennyisége is. A nitrogén túlsúlynak pedig több negatív vonzata is lehetett, például a tápanyagellátás eltolódása (csökken a foszfor és bázis kationok – kalcium, magnézium, kálium – szintje), a talaj savasodása és a szárazság hatásainak növekedése az erdő ökoszisztémájára (Brown et al. 2018). Egy másik tanulmányban a rizoszféra fizikokémiai tulajdonságait és mikrobiomját (baktériumok, gombák) vizsgálták, szintén az Egyesült Királyságban, több helyszínen, köztük egészséges és különböző stádiumú tölgy leromlást mutató területeken. Megállapították, hogy ezek között szoros összefüggés van: a súlyos AOD tüneteket mutató területen a tölgyfák mutatták a legalacsonyabb rizoszféra pH-t, különálló mikrobiommal (egészségi állapottól függetlenül), az alacsony és közepes tüneteket mutató területeken csak a beteg tölgyfák körül volt alacsonyabb a

rizoszféra pH-ja, és a mikrobiális összetétel szignifikánsan eltért az egészséges fákétól. Ez utóbbi két helyen az egészséges tölgyeknél kevésbé szélsőséges talajviszonyokat és a gazda-hasznos mikrobiota magas jelenlétét figyelték meg (Pinho et al. 2020).

Lonsdalea quercina

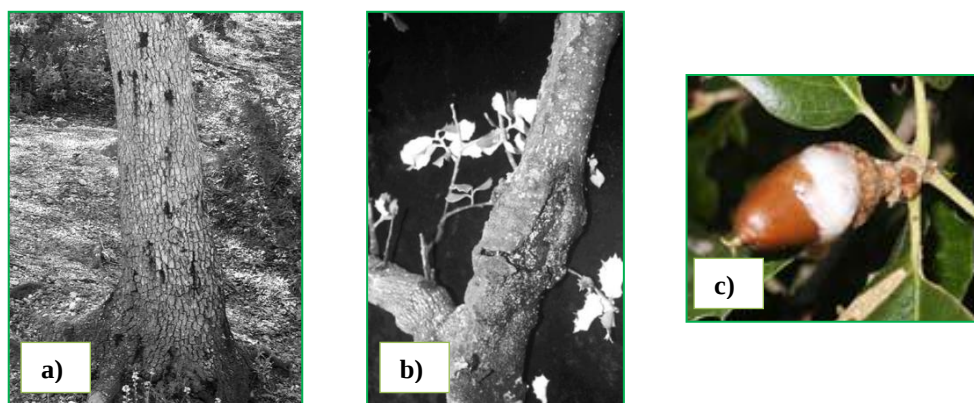
Szinonim nevek: *Erwinia quercina*, *Brenneria quercina*, *Lonsdalea quercina* subsp. *quercina*

Angol név: drippy nut/blight disease

Gazdanövények: *Quercus agrifolia* Née, *Q. faginea* Lam., *Q. ilex* L., *Q. palustris* Münchh., *Q. pyrenaica* Willd., *Q. rubra* L., *Q. shumardii* Buckley, *Q. suber* L., *Q. wislizenii* A. DC

Elterjedés: Egyesült Államok (Hildebrand és Schroth 1967), Spanyolország (Biosca et al. 2003), Lettország (Zalkalns és Celma 2021)

A *Lonsdalea quercina* fajt Kaliforniában, 1967-ben Hildebrand és Schroth írta le elsőként, *Erwinia quercina* néven. A kórokozó fertőzése nyomán a főbb tünetek a nyálkafolyás (a makktermésekből is), kéregrákosodás, jelentős lombhullás, terméskiesés, valamint a fa kondíciójának leromlása (Biosca et al. 2003, Brady et al. 2010). A baktériumfaj a rovarok tojásrakási helyén keletkezett sérülésen keresztül is bejuthat a termésbe, amiből a fertőzés következményeként fehéres, vízszerű, ragacos nedv szivárog. Innen ered a betegség angol neve is: drippy nut disease (Biosca et al. 2003, Swiecki és Bernhardt 2006, Sitz et al. 2018) (13. a, b, c ábra).



13. ábra: A *Lonsdalea quercina* által okozott tünetek: a) „vérző” törzs, b) rákos seb egy ágon, c) nyálkafolyás a makktermésből (Biosca et al. 2003, Swiecki és Bernhardt 2006)

A kórokozó – és a nemzetség – jelenlegi tudományos nevét 2012-ben kapta, molekuláris vizsgálatokat követően (Brady et al. 2012). Sitz és munkatársai (2019) a *Lonsdalea quercina* lehetséges terjedését vizsgálták rovarvektorokkal. A kutatás során öt rovarrend (*Hymenoptera*, *Hemiptera*, *Coleoptera*, *Diptera*, *Lepidoptera*) kilenc családjának (*Apidae*, *Vespidae*, *Formicidae*, *Coreidae*, *Scarabaeidae*, *Coccinellidae*, *Dermestidae*, *Scatopsidae*, *Noctuidae*)

fajait figyelték meg, ahogy a baktériumnyálkából fogyasztanak. A baktérium jelenlétét 6 rovarrend 28 családjának tagjaiban vizsgálták, melyek közül 12 példányból mutatták ki, amelyek a következők voltak: *Allokermes galliformis*, *Chrysobotris femorata*, *Apis mellifera*, *Vespula pensylvanica*, *Leptoglossus occidentalis*, *Harmonia axyridis*.

Lonsdalea britannica

Szinonim név: *Lonsdalea quercina* subsp. *britannica*

Gazdanövények: *Quercus robur* L., *Q. ilex*, *Q. petraea*

Elterjedés: Egyesült Királyság (Brady et al. 2012), Horvátország (Pernek et al. 2022)

A *Lonsdalea britannica* baktériumfajt *Quercus robur* tölgyfajról izolálták Nagy-Britanniában. A kórokozó által kiváltott tünetek nagyjából megegyeznek a *L. quercina* fajnál leírtakkal – kéregrák és tölgy leromlás –, de a terméseken nem jelenik meg a fehéres váladék. A *L. britannica* faj jelenléte összefüggésbe hozható az Egyesült Királyságban elterjedt akut tölgy leromlással (Brady et al. 2012, Crampton et al. 2023).

Lonsdalea iberica

Szinonim név: *Lonsdalea quercina* subsp. *iberica*

Gazdanövények: *Quercus pyrenaica*, *Q. ilex*

Elterjedés: Spanyolország (Biosca et al. 2003)

A *Lonsdalea iberica* által tapasztalt tünetek szintén megegyeznek a *L. quercina* fajnál leírtakkal. A baktériumfajhoz tartozó törzsek Spanyolországból származnak, melyeket mediterrán tölgyfajokról izoláltak (Brady et al. 2012).

Brenneria goodwinii

Gazdanövények: *Quercus brantii*, *Q. cerris* L., *Q. castaneifolia* C. A. Mey., *Q. ilex*, *Q. petraea*, *Q. pubescens* Willd., *Q. robur*, *Q. suber*

Elterjedés: Egyesült Királyság (Denman et al. 2012), Irán (Moradi-Amirabad et al. 2019), Svájc (Meyer et al. 2018, Ruffner et al. 2020), Lettország (EPPO 2018), Spanyolország (González és Ciordia 2020), Lengyelország (Tkaczyk et al. 2021), Portugália (Fernandes et al. 2022), Horvátország (Pernek et al. 2022), Magyarország (Lakatos et al. 2024)

A tölgy leromlásában jelentős szerepe van a *Brenneria goodwinii* baktériumfajnak, melyet elsőként Denman és munkatársai (2012) azonosítottak kocsányos és kocsánytalan tölgyön. A tünetek megegyeznek a *Lonsdalea quercina* fajnál leírtakkal. Magyarországi tölgyesekben a tünetek, valamint molekuláris vizsgálatok alapján a baktérium komplex több fajtát is

azonosították, és valószínűsítik a *B. goodwinii* és a *Gibbsiella quercinecans* jelenlétét (Hirka et al. 2024, Koltay et al. 2022).

Egy kutatásban a tölgy leromlás kialakulásában szerepet játszó három baktériumfaj [*B. goodwinii* (Bg), *Gibbsiella quercinecans* (Gq) és *Rahnella victoriana* (Rv)] kölcsönhatásainak feltárását tűzték ki célul. A fajok egymás fitnesszére való interakciójának megállapításához tölgylevél kivonatos táptalajt készítettek (50 g autoklávozott tölgylevélből), amin a két- és háromkultúrás (Bg + Rv, Bg + Gq, Rv + Gq; Bg + Rv + Gq) kölcsönhatásokat vizsgálták több módszerrel is. Monokultúrában a *B. goodwinii* növekedett a leggyorsabban, és rendelkezett a legmagasabb életképes sejtszámmal, emellett a Bg + Rv és Bg + Gq dikultúrákban mutualista, vagyis kölcsönösen kedvező interakciókat jegyeztek fel. A háromkultúrás kísérletben a *B. goodwinii* és a *R. victoriana* együttműködő viselkedést mutattak, hogy kiszorítsák a *G. quercinecans* fajt. Mindent összevetve megállapították, hogy a *B. goodwinii* több előnyben részesült *in vitro* kompetitív kölcsönhatások között – a fitness szempontjából (Brady et al. 2022b).

Pettifor és munkatársai (2020) vizsgálták a *B. goodwinii* és a *G. quercinecans* esővízben és erdei talajban való túlélési képességét laboratóriumi körülmények között. Eredményeik szerint a *B. goodwinii* baktériumfaj nem volt képes fennmaradni, ezzel ellentétben a *G. quercinecans* kimutatható volt a kísérlet teljes időtartama alatt (84 nap) az esővízből, illetve 28 nap után még a talajból is. A négy fő AOD-hoz kapcsolódó baktériumfaj túlélésével egy másik kutatásban is foglalkoztak, de a talajon kívül tölgyleveleket és makkterméseket is bevontak a kísérletbe (Maddock et al. 2023b). Az *in vitro* vizsgálatok eredményei szerint a fajok többsége mindhárom mintatípusban nagyjából hat hétig képes volt fennmaradni. Emellett vizsgálták a baktériumok előfordulását egészséges és tüneteket mutató tölgyfákon és környezetükben (talajban, kéregben, levélben és termésben). Megállapították, hogy a *R. victoriana* és *G. quercinecans* fajok széles körben elterjednek tűnnek a környezetben, ami arra enged következtetni, hogy az endofita kolonizáció több útvonala is lehetséges. A *B. goodwinii* és *L. britannica* fajokat egészséges és tüneteket mutató fák makkterméseiből is kimutatták, ami azt jelzi, hogy a jelen vannak a magban, és annak ellenére, hogy a gazdaszervezeten kívül is képesek túlélni, környezeti előfordulásuk korlátozott (Maddock et al. 2023b).

Brenneria roseae

Alfajok: *Brenneria roseae* subsp. *americana*, *Brenneria roseae* subsp. *roseae*

Gazdanövények: *Quercus brantii*, *Q. castaneifolia*, *Q. cerris*, *Q. kelloggii*, *Juglans regia*, *Carpinus betulus* L.

Elterjedés: Egyesült Királyság (Brady et al. 2014a), Irán (*Brenneria roseae* subsp. *roseae*) (Moradi-Amirabad et al. 2019), Magyarország (*Brenneria roseae* subsp. *roseae*) (Lakatos et al. 2024)

Egy 2014 őszén megjelent publikációban új baktériumfaj került leírásra, amelyet összefüggésbe hoztak az akut tölgy leromlással. A *Q. cerris* tölgyfajról a *Brenneria roseae* subsp. *roseae* kórokozót, a *Q. kelloggii* fajról pedig a *Brenneria roseae* subsp. *americana* kórokozót izolálták. A tüneteket tekintve hasonló a *Lonsdalea quercina* fajnál leírtakhoz: a vertikális kiterjedésű sebekből váladékfolyás figyelhető meg, melyek alatt a szövetek elhalnak (Brady et al. 2014a).

Iránban, több kutatásban számoltak be a *Brenneria roseae* subsp. *roseae* alfaj megfigyeléséről és azonosításáról *Juglans regia*, *Carpinus betulus* és *Quercus* gazdanövényekről (Moradi-Amirabad et al. 2019, Bakhshi ganje et al. 2020, Allahverdipour et al. 2020, 2021).

2.4.6. *Brenneria populi* Hauben et al. 1998 és *Brenneria populi* Li et al. 2015

Szinonim név: *Brenneria populi*

Alfajok: *Brenneria populi* subsp. *populi*, *Brenneria populi* subsp. *brevivirga* (Zheng et al. 2017)

Gazdanövények: *Populus x euramericana* (Dode) Guinier, *Populus nigra* L.

Elterjedés: Spanyolország (*Benneria populi* Hauben et al. 1998b) (Biosca et al. 2006, 2008), Kína (*Brenneria populi* Li et al. 2015), Irán (Moradi-Amirabad et al. 2021)

2006-ban, Spanyolországban számoltak be először *Brenneria* fajról nyárfákon. A *Brenneria* fajokra jellemző tüneteket tapasztaltak 8 és 11 éves *Populus x euramericana* fákon: hosszúkas, rákos sebek a kérgen, melyekből barnás, ragacsos váladékfolyás indult meg. A kéreg belső szövetei jellegzetesen vöröses színűek voltak, melyek idővel nekrotikus léziókká alakultak. A *Brenneria* nemzetség tagjaként írták le, de fajszintű azonosítás nem történt (Biosca et al. 2006). 2014-ben Li és munkatársai a *Lonsdalea populi* kórokozó megjelenését publikálták, amelyben a felhasznált izolátumok között három spanyolországi izolátum is szerepelt *Brenneria populi* néven. Ez utóbbi baktériumfajt viszont csak egy évvel később írták le, amelyben már csak saját izolátumaikat sorolták fel (Li et al. 2015). A spanyol izolátumok pontos fajmeghatározása tisztázatlan, *Benneria populi* Hauben et al. 1998 néven hivatkoznak rájuk, a kínai izolátumokra pedig *Brenneria populi* Li et al. 2015 néven. 2021-ben Iránban is izoláltak *Brenneria* fajt *Populus nigra* törzsén megfigyelt rákos kéregből. Az elvégzett vizsgálatok alapján a spanyol izolátumokhoz hasonlítottak, de mutattak némi különbséget. Megállapították, hogy további vizsgálatok szükségesek a fajszintű meghatározáshoz, így *Brenneria* sp. néven publikálták a törzseket (Moradi-Amirabad et al. 2021).

2.4.7. *Lonsdalea populi*

Szinonim név: *Lonsdalea quercina* subsp. *populi*

Angol név: poplar bark canker disease

Gazdanövények: *Populus x euramericana*, *P. x interamericana* Brockh., *Salix matsudana* Koidz.

Elterjedés: Magyarország (Tóth et al. 2013), Kína (Li et al. 2014), Spanyolország (Berruete et al. 2016), Portugália (Abelleira et al. 2019), Szerbia (Zlatković et al. 2020)

2009-től kezdődően hosszanti repedéseket és rákos sebektől szivárgó fehér, ragacsos nyálkafolyást figyeltek meg nyárfákon Tóth és munkatársai (2013) Magyarországon (14. ábra). Izolálták a kórokozót, és az elvégzett vizsgálatok alapján megállapították, hogy a *Lonsdalea quercina* baktériumfaj új alfaja, melyet *Lonsdalea quercina* subsp. *populi* néven írtak le. Néhány évvel később, további molekuláris vizsgálatokat követően már különálló fajként, *Lonsdalea populi*-ként nevezik meg (Li et al. 2017).



14. ábra: *Lonsdalea populi* által okozott tünetek: fehér, habzó nyálkafolyás és hosszanti repedések a törzsön (Zlatković et al. 2020)

A betegség tünetei 9 és 26 év közötti fákon voltak láthatóak, a súlyos állapotban lévő fák néhány év alatt elpusztultak (Abelleira et al. 2019). Két kutatás során is tapasztalták, hogy a baktériumnyálkában nagy számban volt jelen a *Panagrellus redivivus*, baktériumokkal táplálkozó fonálféreg faj (Tóth et al. 2013, Abelleira et al. 2019).

2019-ben, Kínában a kórokozót azonosították fűzfákról (*Salix matsudana*), amelyeken hasonló tüneteket figyeltek meg, mint a nyárfákon korábban (Li et al. 2019a).

2.4.8. *Brenneria corticis*

Gazdanövény: *Populus x euramericana*

Elterjedés: Kína (Li et al. 2019b)

A *Brenneria corticis* baktériumfajt *Populus x euramericana* növényeken megfigyelt rákos sebekből izolálták. A tapasztalt tünetekről nincs információ, a fajról megjelent egyetlen publikációban erre nem térnek ki a szerzők, illetve patogenitási teszt és annak eredményei sem erősítik meg a baktérium fitopatogén mivoltát. Az új faj azonosításához a morfológiai, fiziológiai és biokémiai tulajdonságai mellett több molekuláris módszert is alkalmaztak [pl. 16S rRNS (riboszómális RNS) és négy háztartási gén szekvenciáinak elemzése, stb.] (Li et al. 2019b).

2.4.9. *Brenneria tiliae*

Gazdanövények: *Tilia x moltkei*, *T. x europaea*

Elterjedés: Egyesült Királyság (Kile et al. 2022)

Az Egyesült Királyság több különböző pontján váladékozó rákos sebeket figyeltek meg hársfákon (15. ábra). A rákos seb alatti kéregszövet elbarnult, elfeketedett, néhány seb száraznak tűnt, míg más rákos sebek vizenyősek és nyálkásak voltak, belőlük rozsdabarna színű folyadék szivárgott. Az egyik fa törzséről eltávolították a kérget, és alatta 110 cm hosszan futó szövetelhalást tapasztaltak. A tünetes hársfákból gyűjtött mintákból hét baktériumtörzset izoláltak, amelyek során a *gyrB* gén vizsgálata alapján a legközelebbi rokonságot a *B. corticis* és a *B. nigrifluens* izolátumokkal mutatták. További vizsgálatokat végeztek, hogy meghatározzák a törzsek taxonómiai pozícióját, és megállapították, hogy egy új *Brenneria* fajhoz tartoznak, amelynek a *B. tiliae* tudományos nevet javasolták (Kile et al. 2022).



15. ábra: Sötét színű nyálkafolyás a hársfákon (Kile et al. 2022)

2.4.10. *Brenneria izbisi*

Gazdanövények: *Juglans regia*

Elterjedés: Szerbia (Gašić et al. 2022)

2020-ban, Szerbiában két négyéves dióültetvényben sötétbarnás-feketés színű, besüppedő léziókat, hosszanti repedéseket figyeltek meg a fák törzsén és ágain, melyekből sötét színű váladék szivárgott. A kérget eltávolítva a léziók a xilémig hatoltak. Néhány diófán a fertőzés következtében kialakuló rákos sebek a fák pusztulását okozták. A tüneteket mutató diófákról három baktériumfajt azonosítottak: a *Brenneria nigrifluens*, a *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*, valamint egy új fajt, amelyet *B. izbisi*-nek neveztek el (Gašić et al. 2022).

2.4.11. *Brenneria bubanii*

Gazdanövények: *Juglans regia*, *Populus x euramericana*

Elterjedés: Magyarország (Tóth és Lakatos 2023)

Magyar kutatók hibrid nyárfán megfigyelt rákos sebből (amelyből nyálka szivárgott), valamint dió pusztuló burkából izoláltak két baktériumot. Az izolátumok morfológiai tulajdonságai megegyeztek, így további vizsgálatoknak vetették alá őket. Az elvégzett vizsgálatok alapján izolátumaik egy új baktériumfajhoz tartoznak, amely a *B. bubanii* elnevezést kapta, Dr. Bubán Tamás tiszteletére, az öt évtizedes magyarországi kutatási tevékenységéért (Tóth és Lakatos 2023).

2.4.12. *További Brenneria és Lonsdalea fajok, melyek jelenleg még nem szerepelnek az elfogadott fajok listáján*

Az alábbi baktériumfajokat csak érintőlegesen tárgyalom, mert hivatalosan még nem kerültek fel az elfogadott fajok listájára.

Lonsdalea quercina pv. *lupinicola*

Szinonim név: *Brenneria quercina* pv. *lupinicola*

Angol név: drippy pod

Gazdanövények: *Lupinus albus* L., *L. sulphureus* Douglas ex Hook., *L. leucophyllus* Lindl.

Elterjedés: Egyesült Államok (Lu és Gross 2010)

A *Lonsdalea quercina* pv. *lupinicola* baktériumfajról Amerikában, Washington Államban számoltak be csillagfürt fajokról. A tünetek késő tavasztól jelentek meg, a virágzás ideje alatt az állomány fertőzött egyedeinek sárgulását tapasztalták. Később a hüvelyeken apró, vízzel átitatott léziók voltak láthatóak, és a fertőzés előrehaladtával ezekből habzó, ragacsos váladék szivárgott

(16. ábra). A betegség gyorsan elterjedt Washington keleti felén, amit a jelenlévő fitofág *Lygus* és egyéb rovarfajok táplálkozási tevékenységével hoztak összefüggésbe. A kórokozó morfológiai, fiziológiai és biokémiai tulajdonságai mellett patogenitási tesztet (*Brenneria quercina*, *B. salicis* és *Erwinia amylovora* típustörzsekkel együtt), zsírsavanalízist, valamint a 16S rRNS gén és 16S–23S gének közötti régiók szekvenciáinak elemzését is elvégezték. Eredményeik alapján a patogenitási teszt során csak a *Lonsdalea quercina* pv. *lupinicola* izolátumok okoztak tüneteket, a típustörzsek izolátumai nem, a szekvenciák analízise pedig azt mutatta, hogy a csillagfűtről származó izolátumok különböztek a már ismert *Brenneria* fajok izolátumaitól, így új fajként számoltak be róluk (Lu és Gross 2010).



16. ábra: A *Lonsdalea quercina* pv. *lupinicola* által okozott tünetek fehér csillagfűtrőn (Lu és Gross 2010)

Brenneria yuansilingia

Gazdanövények: *Salix matsudana*

Elterjedés: Kína (Sun et al. 2020)

Egy 2020-ban megjelent publikációban új *Brenneria* fajról számoltak be kínai kutatók. A két törzset fűzfák kérgén tapasztalt kéregrákból izolálták – egyéb, látható tünetet nem közöltek –, majd meghatározták morfológiai, fiziológiai és biokémiai tulajdonságaikat, zsírsavanalízist és molekuláris vizsgálatokat végeztek. Eredményeik alapján a két izolátum egy különálló fajhoz tartozott, melyet *Brenneria yuansilingia* néven publikáltak. Leírásukban arról nincs információ, hogy az új faj kórokozó lenne, és képes fertőzni a fűzfákat (Sun et al. 2020).

Brenneria izadpanahii

Gazdanövények: *Quercus castaneifolia*

Elterjedés: Irán (Bakhshi ganje et al. 2021)

Az „Iran isolate 50” törzset Bakhshi ganje és munkatársai (2021) betegség tüneteit mutató tölgyfákról izolálták. Az izolátummal néhány, javarészt molekuláris vizsgálatot végeztek el, melyek során azonosítottak egy enzimet is, amely a növényi sejtfal egy komponensének lebontásáért felelős, és a *Brenneria goodwinii* fajban is megtalálható. Emellett azonosították a VirK és MviM potenciális virulencia faktorokat. De publikációjukban nem tesznek említést a tapasztalt tünetekről, illetve a kórokozó patogenitásának igazolásáról.

Affinibrenneria salicis

Gazdanövények: *Salix matsudana*

Elterjedés: Kína (Bian et al. 2021)

Az *Affinibrenneria salicis* kórokozót *Salix matsudana* kérgén megfigyelt rákos sebből izolálták. Egyetlen publikáció jelent meg a baktériumfajról, amelyben szintén nem térnek ki a tapasztalt tünetekre. Elvégezték a patogenitási tesztet, melynek során négyéves fűzfákat fertőztek, majd 7, 14 és 21 nappal értékelték az inokulációt követően. Eredményeik szerint az L3-3HA^T izolátum nem váltott ki tüneteket a növényeken. A 16S rRNS és négy háztartási gén szekvenciáinak elemzése (MultiLocus Sequence Analysis, MLSA) – illetve további morfológiai, fiziológiai és biokémiai vizsgálatok – alapján izolátumuk egy külön ágon helyezkedik el, egy új nemzetséget képviselve a *Pectobacteriaceae* család nemzetségei mellett (Bian et al. 2021).

2.5. KÖZTERÜLETEK LOMBHULLATÓ DÍSZFÁINAK NÖVÉNYVÉDELME

Magyarországon, a közterületekre vonatkozó szabályozást a 43/2010. (IV.23.) FVM rendelet tartalmazza. Rendelkezik a közterületeken felhasználható növényvédő szerekről, melyek csak II. vagy III. forgalmi kategóriájúak lehetnek, illetve az engedélyokiratban megadott módon lehet alkalmazni azokat. Továbbá, a kijuttatást olyan szakirányítónak kell felügyelnie, aki rendelkezik tagsággal a Magyar Növényvédő Mérnöki és Növényorvosi Kamaránál. Emellett a rendelet megszabja azt is, hogy a növényvédő szer közterületi kijuttatását megelőzően az érintett lakosságot tájékoztatni kell (6. § 2a-b).

A 2022. évi Növényvédő szerek, termésnövelő anyagok című kiadvány I. kötetében a közterületeken (ide értendők: parkok, közterek, parkolók, gyalogutak, temetők) díszfákra kifejezetten baktériumos betegségek ellen nincsenek rendelkezésre álló hatóanyagok – még kontakt hatásmódúak sem. A dísznövényeken megjelenő gombás betegségek ellen pedig egy rézhidroxid hatóanyagú gombaölő szernek van engedélye, aminek hatása lehet a baktériumok

ellen is (Ocskó et al. 2022). A dísnövények és héjas gyümölcsűek esetén alkalmazható hatóanyagok az 1. táblázatban találhatóak, melyek engedély okiratait 2023. évre vonatkozóan a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Növényvédő szerek adatbázisában ellenőriztem (Internet1).

1. táblázat: Dísnövények és héjas gyümölcsűek esetén alkalmazható hatóanyagok (Ocskó et al. 2022, Internet1)

	<i>Készítmény neve</i>	<i>Hatóanyag</i>
Dísnövények (díszfák, díszcserjék, hajtattott cserepes, útmenti fák)		
Fasebkezelés	Arbosan fasebkezelő	kalcium-karbonát
	Biocera fasebkezelő és oltóviasz	denaturált szesz, marhafaggyú, fenyőgyanta, növényolaj, vas (III)-oxid (vörös), méhviasz
	Fadoktor fasebkezelő szer	perubalzsam, ichtiol
	Fagél	butilakrilát-sztirol-kopolimer
Peronoszpóra, fitoftórás tőpusztulás	Badge SC (WG)	réz-hidroxid, réz-oxiklorid
	Champion WG	réz-hidroxid
Héjas gyümölcsűek (dió, mogyoró, mandula, gesztenye)		
Fasebkezelés	Ld. Dísnövények	
Gomba és baktérium okozta betegségek	Astra Rézoxiklorid	réz-oxiklorid
	Champ DP	réz-hidroxid
	Champion 2 FL	réz-hidroxid
	Cuprosan 50 WP	réz-oxiklorid
	Joker 77 WP	réz-hidroxid
	Montaflow	réz-oxiklorid
	Neoram 37,5 WG	réz-oxiklorid
	Nordox 37,5 WG	réz(I)oxid
	Vitra Rézhidroxid	réz-hidroxid

A 2009/128/EK irányelv tárgya szerint csökkenteni szükséges a peszticidek használatát, hogy mérsékeljük azok emberi egészségre, valamint a környezetre kifejtett negatív hatásait. Javasolják az integrált növényvédelem, és az alternatív módszerek előnyben részesítését (1. cikk). Mivel ajánlott a peszticidek fenntartható használatára törekedni, az illóolajok hatékonyságával kapcsolatos vizsgálatok is egyre több teret nyernek. Egy 2014-ben megjelent kutatásban az *Ocimum ciliatum* Hornem. illóolajának egy összetevőjéről (metil-kavikol) megállapították, hogy gátló hatással rendelkezik tíz növénypatogén baktériummal szemben,

köztük a *Brenneria nigrifluens* ellen is, sőt, ez a kórokozó bizonyult a legérzékenyebbnek a gátlási zóna méretét tekintve. A kutatás célja annak meghatározása volt, hogy az *Ocimum ciliatum* illóolaj említett összetevője laboratóriumi körülmények között milyen antimikrobiális tulajdonságokkal rendelkezik, ezért arról nincs információ, hogy van-e fitotoxikus hatása, illetve szabadföldön hogyan lehetne alkalmazni (Moghaddam et al. 2014).

Hazánkban Szentmihályi (2016), a diplomamunkájának keretein belül, a *Brenneria* (*B. alni*, *B. nigrifluens*, *B. populi*, *B. rubrifaciens*, *B. salicis*) és *Lonsdalea* (*L. quercina*) fajok elleni védekezés lehetőségeit vizsgálta *in vitro* körülmények között. Agar diffúziós módszer alkalmazásával tesztelte növényvédő szerek hatóanyagait (Bordói keverék, mankoceb, rézhidroxid, rézoxiklorid és tribázikus réz-szulfát hatóanyag), kondicionáló (Csöpp Mix, em-BIO) és sebkezelő (Fagél) készítmények, antibiotikumok (kasugamicin, sztreptomicin), természetes anyagok és illóolajok (fahéj, kakukkfű, feketecsalán, fokhagyma, vörösfonya), valamint fertőtlenítő szerek [ételecet (10%-os), Fitostore oldat, nátrium-hipoklorit] hatását, többféle hígításban. Megállapította, hogy a növényvédő szerek és antibiotikumok esetén a 10%-os koncentráció bizonyult a legjobb hatékonyságúnak – amely meghaladja az előírt dózist. A fertőtlenítő szerek közül a 10%-os étalecet esetén tapasztalta a legnagyobb gátlási zónát. A két kondicionáló készítmény, valamint a természetes anyagok és illóolajok hígítás nélkül adták a legjobb eredményt, a leghatékonyabb pedig a fahéj illóolaja volt.

Az Egyesült Királyságban egy kutatási program egyik projektjének (Bacterial Plant Diseases Programme – BAC-STOP project) kutatói több hasznos anyagot is összeállítottak, melyek tartalmazzak javaslatokat az erdőkben baktériumok által okozott betegségek és azok terjedése ellen:

- metszőollók fertőtlenítése minden egyes fa metszését követően,
- kerülni kell a párás körülmények közötti metszést,
- fakivágást követően gondoskodni kell minden eszköz megfelelő fertőtlenítéséről,
- lábbelik fertőtlenítése, hogy megelőzzük a baktériumok továbbterjesztését egyik területről a másikra,
- megfelelő fertőtlenítőszer kiválasztása, ajánlások alapján (Crampton et al. 2022, 2023).

Emellett, mivel nem áll rendelkezésre megfelelő módszer például a *Lonsdalea quercina* baktériumfajjal szemben sem, a fertőzött tölgyfákról ajánlott a baktériumnyálka lemosása a törzsről szappanos vízzel, a makktermések eltávolítása, valamint az autófelhajtókra, zárt, belső udvarokra és tetők fölé nyúló ágak visszavágása, amelyekkel a nyálkafolyás redukálható. A komolyabb károk elkerülése végett pedig csökkenteni kell a stresszhatásokat, a megfelelő tápanyagutánpótlással, öntözéssel és növényvédelmi gyakorlattal (Crampton et al. 2023).

Az utóbbi néhány évben több publikáció is megjelent, melyeknek célja a rizoszféra mikrobiom összetétel különbségeinek és a rizoszférában előforduló *Enterobacteriaceae* fajok szerepének tanulmányozása egészséges és az akut tölgy leromlás tüneteit mutató tölgyesekben. A vizsgálatok során új nemzetségeket és baktériumfajokat azonosítottak:

- *Dryocola boscaweniae* és *D. clanedunensis* (Maddock et al. 2023a),
- *Scandinavium hiltneri*, *S. manionii* és *S. tedordense* (Maddock et al. 2022a),
- *Leclercia tamurae*, *Silvania hatchlandensis* és *S. confinis* (Maddock et al. 2022b),
- *Winslowiella arboricola* (Brady et al. 2022a).

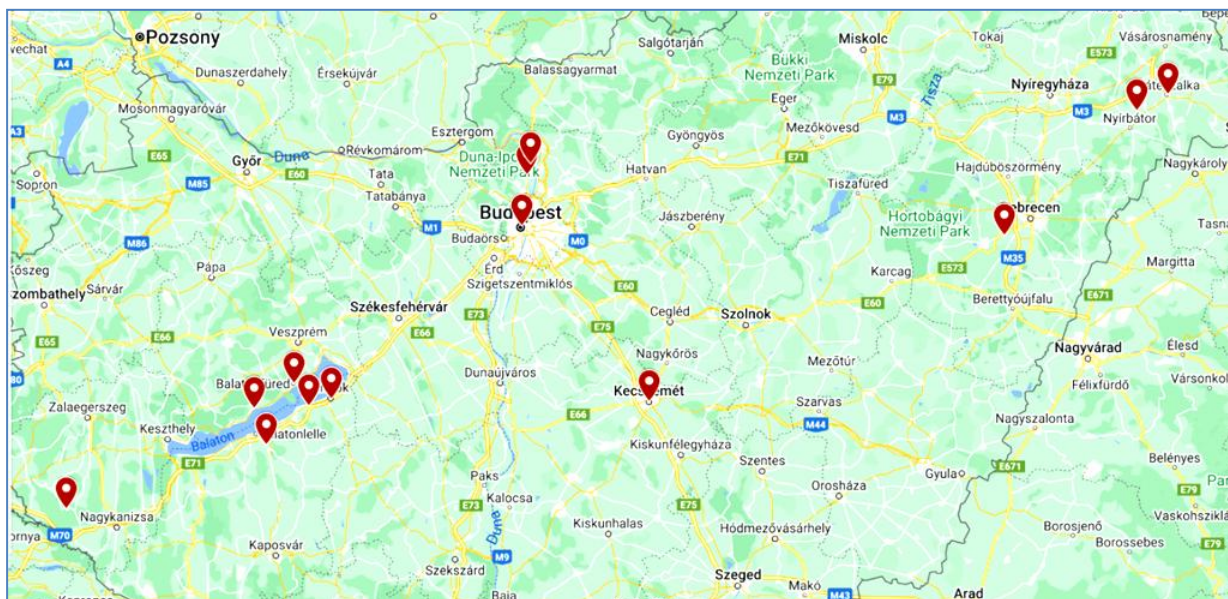
Az egészséges tölgyek gyökerével kapcsolatba kerülő baktériumfajok azonosítása azért is fontos momentum, mert a potenciálisan növényi növekedést serkentő fajok ismeretével és felhasználásával természetes módon enyhíthető lenne a növények stresszre adott reakciója (Maddock et al. 2022b). Pinho és munkatársai (2020) kutatásukban bizonyítékokat gyűjtöttek arra, hogy a fák egészségi állapota, a rizoszféra tulajdonságai és a mikrobiom között ugyanúgy összefüggések vannak, mint a földfeletti fapusztulás tünetei és a földalatti környezet között. Ez kiindulópont lehet az egyesült királysági tölgyfák rizoszféra közösség profiljának meghatározásához, és megalapozza annak lehetőségét, hogy más, leromlásos tüneteket mutató fafajokon is megvizsgálják, és feltárják az összefüggéseket.

Hazánkban nem áll rendelkezésre hatékony növényvédő szer a baktériumfajok ellen, így a kéregbetegséget és nyálkafolyást okozó *Brenneria* és *Lonsdalea* fajok ellen sem. Emellett a városokban élő fásszárú növények kezelése nehézkes a magasságuk miatt, a közterületek növényvédelmi szabályozása miatt, valamint a metszési munkálatok során a higiéniai rendszabályok betartása is nehézségekbe ütközik. Az Európai zöld megállapodás (European Green Deal) végső célja Európa klímasemlegessé és fenntarthatóvá válása. A megállapodás „termelőtől az asztalig” stratégiájának a fenntartható élelmiszer-termelés biztosításáról szóló pontjában kiemelik többek között a növényvédő szerek és műtrágyák használatának csökkentését (Com/2019/640). Ahhoz, hogy ennek eleget tegyünk, és ezzel párhuzamosan növényeinket is megvédjük a baktériumfajok okozta károsításoktól, szükséges megtalálni az áthidaló megoldásokat. A közterületeken alkalmazható lehetőségek közül a megelőzésnek fontos szerepe lehet, hogy a városi negatív tényezőknek kitett növényfajok kondícióját, ellenálló képességét javítsuk, valamint a metszési munkálatok során gondoskodni szükséges az eszközök fertőtlenítéséről, és a keletkezett sebek kezeléséről.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. A VIZSGÁLATOK HELYE, IDEJE

Az ország különböző pontjain, 2012 és 2019 között mintákat gyűjtöttünk közterületeken, parkokban különböző díszfa fajokról, erdőterületről, valamint házikertben diófákról. Elsősorban azokról a tünetes fákról gyűjtöttünk kéreg és/vagy nyálka mintát, amelyeken a *Brenneria* és *Lonsdalea* fajok fertőzésére utaló jellegzetes kéregrepedéseket, valamint azokból szivárgó váladékot észleltünk. A mintavételek helyszíneit az alábbi térkép mutatja (17. ábra), valamint az izolátumok gyűjtési adatait a 2. táblázat tartalmazza.



17. ábra: A vizsgált izolátumok gyűjtési helyei (Forrás: www.google.hu)

A tünetekért felelős kórokozók azonosítását 2015 és 2019 között a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Növényvédelmi Intézetének Növénykórtani laboratóriumában és üvegházában, illetve a patogenitási tesztek egy részét a Soproni Egyetem Erdészeti Tudományos Intézetének Erdővédelmi Osztályán (Mátrafüred) végeztük.

3.2. A VIZSGÁLATOK ANYAGA

3.2.1. Izolátumok

2012 és 2019 között 13 helyszínen, nyolc növényfajról összesen 39 izolátumot gyűjtöttünk, melyek kódjait, gazdanövényét, a gyűjtés helyét és idejét a 2. táblázat foglalja össze.

2. táblázat: Izolátumaink adatai

Sorszámok	Izolátum kódja	Gazdanövény	Gyűjtés helye	Gyűjtés ideje
1	Juglans1	<i>Juglans regia</i>	Zánka	2012.
2	Juglans2	<i>Juglans regia</i>	Látrány	2013.
3	Salix1	<i>Salix alba</i>	Budapest	2012.
4	Pl6	<i>Platanus x acerifolia</i>	Budapest	2013.
5	Pl7	<i>Platanus x acerifolia</i>	Zamárdi	2013.
6	Pl8	<i>Platanus x acerifolia</i>	Budapest	2013.
7	Pl9	<i>Platanus x acerifolia</i>	Bázakerettye	2013.
8	Pl10	<i>Platanus x acerifolia</i>	Siófok	2013.
9	Pl11	<i>Platanus x acerifolia</i>	Budapest	2013.
10	Pl1	<i>Platanus x acerifolia</i>	Budapest	2017.
11	Pl2	<i>Platanus x acerifolia</i>	Siófok	2016.
12	Pl3	<i>Platanus x acerifolia</i>	Balatonfüred	2016.
13	Pl4	<i>Platanus x acerifolia</i>	Budapest	2016.
14	Pl5	<i>Platanus x acerifolia</i>	Balatonfüred	2016.
15	Ulmus10	<i>Ulmus</i> sp.	Budapest	2013.
16	Ulmus1	<i>Ulmus</i> sp.	Kecskemét	2014.
17	Ulmus2	<i>Ulmus</i> sp.	Kecskemét	2014.
18	Ulmus3	<i>Ulmus</i> sp.	Kecskemét	2014.
19	Ulmus4	<i>Ulmus</i> sp.	Kecskemét	2014.
20	Ulmus5	<i>Ulmus</i> sp.	Kecskemét	2014.
21	Ulmus6	<i>Ulmus</i> sp.	Kecskemét	2014.
22	Ulmus7	<i>Ulmus</i> sp.	Kecskemét	2014.
23	Ulmus8	<i>Ulmus</i> sp.	Kecskemét	2014.
24	Ulmus9	<i>Ulmus</i> sp.	Kecskemét	2014.
25	Bet2	<i>Betula pendula</i>	Budapest	2014.
26	Bet1	<i>Betula pendula</i>	Szentendre	2015.
27	Bet4	<i>Betula pendula</i>	Leányfalu	2015.
28	Bet5	<i>Betula pendula</i>	Budapest	2016.
29	Bet6	<i>Betula pendula</i>	Budapest	2016.
30	Bet7	<i>Betula pendula</i>	Budapest	2016.
31	Bet3	<i>Betula pendula</i>	Nyírdersz	2017.
32	Pop1	<i>Populus nigra</i>	Budapest	2015.
33	Morus1	<i>Morus alba</i>	Budapest	2016.
34	Morus2	<i>Morus alba</i>	Budapest	2017.
35	Aes1	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Budapest	2015.
36	Aes4	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Ebes	2017.
37	Aes5	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Mátészalka	2017.
38	Aes2	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Budapest	2018.
39	Aes3	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Budapest	2019.

A felhasznált izolátumokkal kapcsolatos részletes információkat a 2. számú melléklet tartalmazza.

Vizsgálatainkhoz öt típustörzset rendeltünk Németországból, a Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) génbankból, ezen kívül három hazai izolátumot vontunk a kutatásba. A 3. táblázatban összesítettem a klasszikus és molekuláris vizsgálatok során felhasznált típustörzsek és magyarországi izolátumok adatait.

3. táblázat: A vizsgálatokhoz felhasznált izolátumok adatai

Izolátum kódja	Név	Gazdanövény	Gyűjtés ideje	Forrás	Vizsgálat
Németországi génbankból származó típustörzsek					
DSM 11811	<i>Brenneria alni</i>	<i>Alnus glutinosa</i>	1990.	Surico et al. 1996	zöld dió fertőzés
DSM 4483	<i>Brenneria rubrifaciens</i>	<i>Juglans regia</i>	1967.	Wilson et al. 1967	hiperszenzitív reakció (HR), zöld dió fertőzés
DSM 30175	<i>Brenneria nigrifluens</i>	<i>Juglans regia</i>	1955.	Wilson et al. 1957	zöld dió fertőzés
DSM 30166	<i>Brenneria salicis</i>	<i>Salix alba</i>	1957.	Day 1924	zöld dió fertőzés, patogenitási teszt
DSM 4561	<i>Lonsdalea quercina</i>	<i>Quercus</i> sp.	1964.	Hildebrand és Schroth 1967	zöld dió fertőzés
Magyarországi izolátumok					
Ea1	<i>Erwinia amylovora</i>	<i>Malus x domestica</i> Borkh.	1996.	MATE, NI, Növénykórtani Tanszék génbank	HR, zöld dió fertőzés
NY060	<i>Lonsdalea populi</i> NY060	<i>Populus x euramericana</i>	2013.	SOE, ERTI, EO	patogenitási teszt
Xj1	<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>juglandis</i>	<i>Juglans regia</i>	2012.	MATE, NI, Növénykórtani Tanszék génbank	zöld dió fertőzés

3.2.2. Növények

A hiperszenzitív reakció vizsgálata során *Nicotiana tabacum* L. cv. 'Xanthi' dohány növényeket használtunk, melyeket a HUN-REN, Agrártudományi Kutatóközpont, Növényvédelmi Intézet (HUN-REN ATK NÖVI) biztosított.

A patogenitási tesztekhez a következő növényfajokat használtuk fel: *Aesculus hippocastanum*, *Betula pendula*, *Juglans regia*, *Morus alba*, *Platanus x acerifolia*, *Populus nigra*, *Populus x euramericana*, *Salix alba* és *Ulmus pumila*. A vizsgálatokhoz szükséges egy és két éves facsemetéket a Lantos Faiskola (Baracska), valamint a Soproni Egyetem Erdészeti Tudományos Intézetének Erdővédelmi Osztálya (SOE ERTI EO) biztosították.

A zöld dión végzett vizsgálatokhoz a dióterméseket a MATE Gyümölcsstermesztési Kutatóközpont (Érd) bocsátotta rendelkezésünkre.

3.2.3. Táptalajok

A kórokozók izolálása, tenyésztése és fenntartása King B táptalajon (14,4 g King B agar; 3,4 ml glycerol; desztillált víz – 400 ml végtérfogatra kiegészítve), szobahőmérsékleten történt (King et al. 1954). Az izolátumok hosszú távú megőrzése konzerváló folyadékban (0,6 g Beef extract; 1 g peptone; 3,25 ml glycerol; desztillált víz – 200 ml végtérfogatra kiegészítve), -20 és -72 °C-on történt.

A baktériumklónozás során 2TY (4 g tripton; 2,5 g élesztőkivonat; 1,25 g NaCl – 250 ml végtérfogatra kiegészítve), valamint ampicillines LB (Luria Bertani) (17,5 g LB agar; 1000 µl (25 µg/ml) ampicillin – 500 ml végtérfogatra kiegészítve) táptalajt is használtunk.

3.2.4. Laboratóriumi eszközök

A laboratóriumban rendelkezésre álló üveg- és fémeszközök mellett a polimeráz láncreakcióhoz (PCR, Polymerase Chain Reaction) Applied Biosystems GeneAmp 9700 típusú, a baktérium szuszpenzió és a nukleinsav koncentrációjának méréséhez NanoDrop 2000 (Thermo Scientific) típusú készüléket használtunk.

3.2.5. Plazmid, baktériumtörzs

A klónozás során pGEM-T Easy (Promega, 3015 bázispár) plazmid vektort használtunk a ligáláshoz. A plazmidok klónozásához *Escherichia coli* DH5α törzsének kompetens sejtjeit használtuk, melyet a HUN-REN ATK NÖVI biztosított.

3.2.6. Primerek

A kórokozók nemzetség-szintű meghatározásához elsőként a 16S rRNS-t kódoló gén vizsgálatát végeztük el, melyhez a 63F/1389R oligonukleotid indítószekvenciákat használtuk (4. táblázat) (Brosius et al. 1978).

4. táblázat: PCR során használt primerpárok

Gén		Primer neve	Szekvencia
16S	forward	63-F	5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3'
	reverse	1389-R	5'-ACGGGCGGTGTGTACAAG-3'
<i>atpD</i>	PCR	forward	<i>atpD</i> 01-F
		reverse	<i>atpD</i> 02-R
	nested PCR	forward	<i>atpD</i> 03-F
		reverse	<i>atpD</i> 04-R
<i>infB</i>	PCR	forward	<i>infB</i> 01-F
		reverse	<i>infB</i> 02-R
	nested PCR	forward	<i>infB</i> 03-F
		reverse	<i>infB</i> 04-R
<i>gyrB</i>	PCR	forward	<i>gyrB</i> 01-F
		reverse	<i>gyrB</i> 02-R
	nested PCR	forward	<i>gyrB</i> 07-F
		reverse	<i>gyrB</i> 08-R
<i>rpoB</i>	PCR	forward	<i>rpoB</i> CM7-F
		reverse	<i>rpoB</i> CM31b-R
	nested PCR	forward	<i>rpoB</i> CM81b-F
		reverse	<i>rpoB</i> CM32b-R

A szakirodalom alapján a 16S rRNS génszakasz nem alkalmas az egymáshoz közel álló baktériumfajok elkülönítésére (Hedegaard et al. 1999, Spröer et al. 1999). A háztartási gének filogenetikai elemzése megbízhatóbb eredményeket ad, emellett azok multilókus szekvencia analízise (MLSA) alkalmasnak bizonyult több baktérium nemzetség (*Pantoea*, *Tatumella*, *Erwinia*) taxonómiai kérdéseinek megoldására (Brady et al. 2009, 2010, Moretti et al. 2011). A négy háztartási gén kiválasztásakor figyelembe vettük a *Brenneria* és *Lonsdalea* fajok leírásához kapcsolódó szakirodalmat, melyekben általában az *atpD* (ATP synthase β subunit), *infB* (Initiation translation factor 2), *gyrB* (DNA gyrase β subunit) és *rpoB* (RNA polymerase β subunit) gének szekvenciáit elemezték MLSA alkalmazásával (Brady et al. 2012, 2014a, Denman et al. 2012, Tóth et al. 2013, Kile et al. 2022). A háztartási gének vizsgálatát azoknál az izolátumoknál végeztük el, amelyek a 16S rRNS gén szekvenciájuk alapján a *Brenneria* nemzetséghez tartoztak. Az alábbi négy háztartási gént vontuk be vizsgálatainkba:

- *atpD* – 657 bázispár hosszúságú szakasz (Paradis et al. 2005, Young és Park 2007),
- *infB* – 615 bázispár hosszúságú szakasz (Hedegaard et al. 1999),

- *gyrB* – 742 bázispár hosszúságú szakasz (Reece és Maxwell 1991, Dauga 2002), és
- *rpoB* – 637 bázispár hosszúságú szakasz (Drancourt et al. 2001, Kämpfer et al. 2005, Li et al. 2004, Mollet et al. 1997, Stephan et al. 2007).

A háztartási génszakaszok felszaporításához nyolc primerpárt alkalmaztunk, amelyeket a 4. táblázat tartalmaz.

3.2.7. *Enzimek, kitek, egyéb vegyületek*

Enzimek

A PCR során használt enzim: Taq DNS polimeráz enzim (5 U/μl).

A klónozás során használt enzimek:

- ligálás: T4 DNS ligáz enzim (5 U/μl) (Promega),
- minipreparátum: *EcoRI* (10 U/μl) (Fermentas).

Kitek

A biokémiai tulajdonságok meghatározásához alkalmazott kit: API 20E (BioMérieux, Franciaország) gyorseszteszt.

A PCR termékek tisztításához használt kit: High Pure PCR Product Purification Kit (Roche, Basel, Svájc).

A klónozás során a plazmid tisztításához használt kit: Quantum Prep Plasmid Miniprep Kit (Bio-Rad, Hercules, CA, USA).

Egyéb vegyületek

A klónozás során a kék-fehér szelekcióhoz IPTG-t és Xgal-t (Fermentas) használtunk.

3.3. A VIZSGÁLATOK MÓDSZEREI

3.3.1. *Tünetek megfigyelése*

A *Brenneria* és *Lonsdalea* fajokra jellemző tüneteket leggyakrabban a városi környezetben élő díszfákon figyeltük meg. A nyár végi – őszi hónapokban a meleg, párás időjárási körülmények kedvezően hathatnak a baktériumok felszaporodására, aminek következtében megindul, előtör a kisebb kéregpedésekből, metszési sebektől a váladék. Kedvező körülmények között nagyobb mennyiségben is látható, akár több méter hosszan is sötétre

színezhetsen a fák törzsét. Elsősorban a tüneteket mutató fák kérgét és a nyálkafolyást figyeltük a mintavételek során, melyekből a nyár végi – ősz eleji időszakban mintát gyűjtöttünk Eppendorf csövekbe. A mintákat a MATE Növényvédelmi Intézetének Növénykórtani laboratóriumába szállítottuk, ahol a kórokozók azonosításához szükséges vizsgálatokat elvégeztük.

3.3.2. *Izolálás és tenyészbélyegek megállapítása*

A mintavételt követően a kéreg és exudátum mintákat hűtőszekrényben, 4 °C-on tároltuk a feldolgozásig. A kéregből kisebb szeleteket steril műanyag csőbe helyeztünk, és körülbelül 1 ml steril desztillált vizet töltöttünk rá úgy, hogy ellepje azokat. Ugyanezt tettük az exudátumok esetében is, de kevesebb vízmennyiséggel. Mindkét esetben 20–30 percig állni hagytuk a mintákat, majd kézi rázást követően 100 µl mennyiséget mértünk táptalajra (King B), és szélesztettük. Maximum 24 óra elteltével a kiválasztott kolóniákat átoltottuk, ami fontos volt az izoláció szakaszában, a mintákon jelen lévő egyéb gomba-, illetve baktériumfajok miatt. Ha ezt nem tettük meg időben, később a tiszta tenyészet elérése nem, vagy kevés esetben volt lehetséges, a gyorsan növekedő, tápanyagért versengő egyéb fajok miatt. Emellett további hátráltató tényezőt jelentettek a nyálkában jelen lévő, szabad szemmel nehezen észrevehető fonálféreg- és atkafajok, amelyek mozgásukkal a kolóniák keveredését okozták. A tiszta tenyészet létrehozását követően megállapítottuk a kolóniák színét, alakját, a telepek felszínét, szélét és állagát.

3.3.3. *Baktérium szuszpenzió előállítása*

A klasszikus (HR, patogenitási teszt, zöld dió fertőzés, biokémiai teszt) és molekuláris vizsgálatokhoz (DNS kivonás PCR-hez) szükséges baktérium szuszpenziót 24 órás, szobahőmérsékleten (~26 °C) tartott tiszta tenyészetekből készítettük. Steril Eppendorf csövekbe mértünk 1,5 ml steril desztillált vizet, amelyhez oltókacs segítségével néhány kolóniát vegyítettünk. A szuszpenziót 10^7 Colony Forming Unit (CFU) töménységűre állítottuk be spektrofotométer segítségével (540 nm-en), melyet desztillált vizes kalibrálás előzött meg.

A KÓROKOZÓK AZONOSÍTÁSA KLASSZIKUS MÓDSZEREKKEL

3.3.4. *Gram tulajdonság vizsgálata*

Az izolátumok 24 órás tiszta tenyészetéből steril fogpiszkáló segítségével leemeltünk és tárgylemezre helyeztünk 1–1 kolóniát, majd a kolóniákra cseppentett 3%-os kálium-hidroxid (KOH) oldattal (0,3 g KOH 10 ml steril desztillált vízben feloldva) homogenizáltuk. Ezután

megállapítottuk a baktériumfajok Gram tulajdonságát, attól függően, hogy a homogenizálást követően az elegy állaga vizes (Gram-pozitív) vagy nyúlós (Gram-negatív) állagú lett-e (Suslow et al. 1982).

3.3.5. Hiperszenzitív reakció indukáló képesség vizsgálata

A hiperszenzitív reakció kialakulását dohány növényeken vizsgáltuk. A növények levelébe injektáltuk az izolátumok 24 órás tenyészetéből készített szuszpenzióját (10^7 CFU), majd 24 és 48 óra elteltével értékeltük a vizsgálatot (Klement 1963). Minden vizsgálat alkalmával pozitív kontroll szuszpenzióval is fertőztünk, amelyhez az esetek többségében saját *Erwinia amylovora* (Ea1) izolátumot, néhány esetben *Brenneria rubrifaciens* típusörzset (DSM 4483) használtunk.

3.3.6. Biokémiai tulajdonságok vizsgálata

A kórokozók biokémiai tulajdonságainak meghatározásához az API 20E gyorstesztet alkalmaztuk. A gyártó utasításainak megfelelően a mikrocöveket baktérium szuszpenzióval töltöttük meg, 24 óráig 26 °C-on inkubáltuk, majd értékeltük a tapasztalt színváltozások alapján.

3.3.7. Patogenitási teszt

Az összesen 39, dióról, eperfáról, fűzfáról, nyárfáról, nyírfáról, platánról, szilfáról és vadgesztenyéről származó izolátum esetén azok fertőzőképességének igazolására elvégeztük a patogenitási teszteket (Koch 1876). A vizsgálatokhoz egy- és kétéves *Aesculus hippocastanum*, *Betula pendula*, *Juglans regia*, *Morus alba*, *Platanus x acerifolia*, *Populus nigra*, *Populus x euramericana*, *Salix alba* és *Ulmus pumila* facsemetéket fertőztünk 24 órás tenyészetekből készített baktérium szuszpenzióval (10^7 CFU). A kontroll növényeket steril desztillált vízzel kezeltük, pozitív kontrollként a *Brenneria salicis* DSM 30166, valamint a *Lonsdalea populi* NY060 típusörzsekkel inokuláltunk. A tesztet minden izolátum esetén négy ismétlésben végeztük el.

Két módszert alkalmaztunk a fertőzőképesség bizonyítására. Az első módszer során a hajtásvégeknél elhelyezkedő levelek levélalapját injektáltuk 50 µl baktérium szuszpenzióval steril fecskendő és tű segítségével. Az inokulációt követően átlátszó műanyag tasakokkal 72 órára lefedtük a fertőzött hajtásokat, majd steril desztillált vizet fűjtünk a tasakok belsejébe, hogy biztosítsuk a fertőzéshez szükséges páratartalmat. A műanyag tasakok eltávolításáig ezt sűrűn ismételtük.

A második módszert egy korábbi kutatásban leírtak alapján végeztük (Li et al. 2014). A csemeték törzsének kergét fertőtlenítettük 75%-os etanollal, majd 1–1,5 cm hosszú, kereszt alakú

vágást ejtettünk rajtuk steril szikével. A sebekbe 100 µl baktérium szuszpenziót juttattunk pipetta (20-200 µl) segítségével. A sebzéseket Parafilm-mel zártuk le, hogy megvédjük a kiszáradástól. Minden egyes sebzés után a szikéket 96%-os etanolba mártottuk, majd leégettük.

Az első módszert mind a 39, különböző gazdanövényről származó izolátummal elvégeztük, míg a második módszert a következő 18 izolátummal: Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet6, Bet7, Morus1, Morus2, Aes1, Aes4, Aes5, Pop1, Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5.

Mindkét kísérlet esetén 3 hónap elteltével értékeltük a kialakult tüneteket.

3.3.8. *Brenneria nigrifluens* kórokozó gyors azonosítása zöld dión

Moretti és Buonauro (2010) gyors azonosítási módszere alapján, az etanolos fertőtlenítést követően steril fogpiszkálóval megszúrtuk a termések burkát, melyen 50 µl baktérium szuszpenziót juttattunk be. Az inokulálást követően a terméseket 70%-os etanollal fertőtlenített, zárható műanyag dobozokba helyeztük, amelyekbe desztillált vízzel átitatott papírtörölő rétegeket tettünk. A dobozok lezárását megelőzően desztillált vizet fűjtünk a belső oldalakra, hogy biztosítsuk a megfelelő páratartalmat a fertőzéshez, majd az értékelésig szobahőmérsékleten (~26 °C) tartottuk. A tesztet a következő izolátumaink szuszpenziójával (10^7 CFU) végeztük el: Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11, Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet6, Bet7, Ulmus1, Ulmus2, Ulmus3, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10, Aes1, Pop1. A kontroll terméseket steril desztillált vízzel inokuláltuk.

A vizsgálatához felhasznált, egyéb baktériumok: *B. alni*, *B. nigrifluens*, *B. rubrifaciens*, *B. salicis*, *Lonsdalea quercina* típusörzsek, *Erwinia amylovora* (Ea1) és *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* (Xj1) izolátumok.

Az inokulálást követő hetedik napon értékeltük a dióterméseket.

A KÓROKOZÓK AZONOSÍTÁSA MOLEKULÁRIS MÓDSZEREKKEL

3.3.9. DNS izolálása

A molekuláris vizsgálatokhoz szükséges DNS kivonáshoz az izolátumok 24 órás tenyészetéből néhány kolóniát 200 µl, kétszer sterilizált desztillált vizet tartalmazó műanyag PCR csőbe helyeztünk, Vortex segítségével kevertük össze, majd 10 percre 99 °C-os termosztátba tettük. Ezt követően 10 percig centrifugáltuk 4 °C-on 13400 rpm (revolutions per minute) fordulatszámon. A felülúszót átmértük felirattal ellátott, steril műanyag csőbe, majd -20 °C-on tároltuk felhasználásig (Sulyokné Schwarczinger, szóbeli közlés 2018).

3.3.10. Polimeráz láncreakció

A klasszikus vizsgálatok eredménye alapján kiválasztottuk azokat az izolátumokat, amelyeket molekuláris módszerekkel tovább vizsgáltunk. A nemzetség-szintű meghatározáshoz a 16S rRNS-t kódoló gén vizsgálatát végeztük el, melyhez a 63F/1389R primerpárt használtuk (4. táblázat). A PCR paramétereit az 5. táblázat tartalmazza.

5. táblázat: A PCR paramétereit 16S rRNS gén esetén

PCR ciklus	16S rRNS
1. elődenaturálás	95 °C 5 p
2. denaturálás	94 °C 15 mp
3. primer kötődés	55 °C 30 mp
4. lánchosszabbítás	72 °C 90 mp
5. lánchosszabbítás	72 °C 10 p
	2., 3. és 4. lépés 35 cikluson keresztül ismétlődött.

A kapott nukleotid szekvenciákat az NCBI Nucleotide Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) keresőcellájába illesztettük (Altschul et al. 1990), és az eredményektől függően az izolátumokat további három, illetve négy háztartási génre is vizsgáltuk: *atpD*, *infB*, *gyrB* és *rpoB*. Itt meg kell jegyeznünk, hogy az *infB* génszakasz PCR általi vizsgálata során nehézségekbe ütköztünk, emiatt ennek a génnek az esetében csak néhány izolátum esetén áll rendelkezésre szekvencia.

A PCR során használt primerpárokat és adataikat a 4. táblázat tartalmazza (a 3.2.6. pontban).

A PCR elegy (50 µl végtérfogatra kiegészítve) a következő hozzávalókat tartalmazta:

- 5 µl 10-szeres Taq puffer,
- 3 µl MgCl₂ (25 mM),
- 2 µl dNTP mix (5 mM),
- 1–1 µl forward és reverz primer (20 µM) (Integrated DNA Technologies – IDT),
- 1 µl Taq DNS polimeráz enzim (5 U/µl),
- 3 µl templát DNS,
- 34 µl steril desztillált víz.

A háztartási gének adott szakaszainak felszaporításához a polimeráz láncreakciók paramétereit a 6. és 7. táblázat tartalmazza:

6. táblázat: A PCR paraméterei *atpD*, *gyrB* és *rpoB* gének esetén

PCR ciklus	<i>atpD</i>	<i>atpD</i> , <i>gyrB</i> , <i>rpoB</i> nested PCR	<i>gyrB</i> , <i>rpoB</i>
1. elődenaturálás	94 °C 5 p	94 °C 5 p	94 °C 3 p
2. denaturálás	94 °C 35 mp	94 °C 30 mp	94 °C 15 mp
3. primer kötődés	56 °C 30 mp	54 °C 30 mp	50 °C 30 mp
4. lánchosszabbítás	72 °C 90 mp	72 °C 55 mp	72 °C 90 mp
5. lánchosszabbítás	72 °C 10 p	72 °C 10 p	72 °C 10 p
	2., 3. és a 4. lépés <u>35</u> cikluson keresztül ismétlődött.		2., 3. és a 4. lépés <u>40</u> cikluson keresztül ismétlődött.

7. táblázat: A PCR paraméterei *infB* gén esetén

PCR ciklus	<i>infB</i>	<i>infB</i> nested PCR
1. elődenaturálás	94 °C 3 p	
2. denaturálás	94 °C 1 p	
3. primer kötődés	45 °C 1 p	
4. lánchosszabbítás	72 °C 90 mp	
	2., 3. és a 4. lépés 3 cikluson keresztül ismétlődött.	
2. denaturálás	94 °C 15 p	1. elődenaturálás 94 °C 5 p
3. primer kötődés	50 °C 30 mp	2. denaturálás 94 °C 30 mp
4. lánchosszabbítás	72 °C 90 mp	3. primer kötődés 54 °C 30 mp
	az 5., 6. és 7. lépés 35 cikluson keresztül ismétlődött.	4. lánchosszabbítás 72 °C 55 mp
5. lánchosszabbítás	72 °C 10 p	72 °C 10 p
	2., 3. és a 4. lépés 35 cikluson keresztül ismétlődött.	

3.3.11. Gélelektroforézis

A kapott amplikonokat vízszintes, mini elektroforézis készülék segítségével választottuk szét, GelReddel (Biotium, Csertex Kft., Magyarország) festett, 1%-os agaróz gélben és egyszeres TBE pufferben (12,11 g Tris; 5,135 g bórsav; 0,372 g EDTA; desztillált víz – 1 l végtérfogatra kiegészítve). A nukleinsav szakaszok hosszát DNS létra (GeneRuler 100 bp Plus Ladder, Thermo Scientific) segítségével határoztuk meg, majd a DNS frakciókat értékeltük és fényképeztük áteső ultraibolya fény (254 nm) alatt (UVP, BioDoc-It™ System).

3.3.12. PCR termék tisztítása

A PCR termékeket a High Pure PCR Product Purification Kittel tisztítottuk, a gyártó utasításainak megfelelően. Ezt követően spektrofotométerrel ellenőriztük a termékek koncentrációját.

3.3.13. Tisztított PCR termék klónozása

Vizsgálataink során csak a PCR-rel felszaporított 16S rRNS gén tisztított PCR termékeit klónoztuk. A következő izolátumok (37) esetén történt klónozás: Juglans1, Juglans2, Salix1, Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5, Pl6, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11, Ulmus1, Ulmus2, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10, Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet7, Pop1, Morus1, Morus2, Aes1, Aes2, Aes3, Aes4, Aes5.

Ligálás

A ligálás során az alábbi összetevőket steril Eppendorf csövekbe mértük, és egy éjszakára 4 °C-on tartottuk.

- 4 µl steril deszillált víz,
- 1 µl pGEM-T Easy vektor,
- 1 µl T4 DNS ligáz puffer,
- 1 µl T4 DNS ligáz enzim,
- 3 µl tisztított PCR termék.

Transzformálás

A ligátumokat *Escherichia coli* DH5α kompetens sejtekbe juttattuk, az alábbiak alapján:

1. A -72 °C-on tárolt kompetens sejteket jégre helyezve kiolvasztottuk.
2. 50 µl kompetens sejtet mértünk minden ligátumhoz (Eppendorf csövekbe), majd 20 percig állni hagytuk a jégen.
3. A csöveket 42 °C-os termosztátba tettük 1 percre, majd 2 percre visszahelyeztük jégre.
4. Ezt követően steril fülkében steril üvegfiolákba mértünk 300 µl folyékony, antibiotikummentes 2TY táptalajt, a ligátumot és a kompetens sejteket hozzáadtuk, majd pipetta segítségével elvegyítettük, végül leragasztottuk őket.
5. Rázógépben 200 rpm fordulatszámon, 37 °C-on 60 percig rázattuk a lezárt fiolákat.
6. A rázatás időtartama alatt steril fülkében ampicillint tartalmazó LB táptalaj lemezen 10 µl IPTG-t és 40 µl X-Gal oldatot szélesztettünk.
7. A rázatás lejártaival a fiolákból 50 µl-t és 100 µl-t szélesztettünk a táptalaj lemezeken.
8. Ezután a lemezeket lefordítva, sötétben, 37 °C-on inkubáltuk, egy éjszakán keresztül.
9. A következő nap reggelén 4 °C-ra helyeztük a lemezeket, hogy a kék és a fehér kolóniák jobban elkülöníthetők legyenek.

Plazmidok tisztítása minipreparátum módszerrel

1. A kiválasztott fehér kolóniákból 2 ml folyékony ampicillines LB táptalajba oltottunk steril fogpiszkáló segítségével, majd 200 rpm fordulatszámon egy éjszakán át rázattuk 37 °C-on. Ezzel egy időben a kolóniákat masterplate-re is leoltottuk felszaporítás céljából, és 37 °C-on, szintén egy éjszakán át inkubáltuk.
2. A baktériumkultúrát átmértük steril Eppendorf csövekbe, és 3 percig centrifugáltuk (13400 rpm), majd elöntöttük a felülúszót.
3. A pelletehez 200 µl „A” oldatot (15 mM TRIS HCl pH: 8,0; 50 mM glükóz; 10 mM EDTA) mértünk, összekevertük Vortex-szel, és állni hagytuk.
4. Öt perc elteltével hozzáadtunk 400 µl „B” oldatot (0,2 M NaOH; 1% SDS), és kézi rázás útján összeforgattuk.
5. Ezt követően 300 µl „C” oldatot (60 ml 5 M Na-acetát; 11,5 ml ecetsav; 28,5 ml steril desztillált víz) mértünk hozzá, kézzel összeráztuk, jégre helyeztük 5 percre, majd 5 percig centrifugáltuk (13400 rpm).
6. Steril Eppendorf csőbe töltöttük át a felülúszót, és újból 5 percig centrifugáltuk.
7. A felülúszót ismét steril Eppendorf csőbe öntöttük, 600 µl izopropanolt mértünk hozzá, a DNS denaturálásához, és kézi rázással kevertük.
8. 5 perc centrifugálást (13400 rpm) követően elöntöttük a felülúszót, lecsepegtettük, majd 200 µl „D” oldatot (0,1 M Na-acetát pH: 7,0; 0,05 M TRIS HCl pH: 8,0) adtunk hozzá és 10 percig állni hagytuk.
9. Vortex segítségével összekevertük, hozzámértünk 400 µl abszolút etanolt, majd 5 percig centrifugáltuk (13400 rpm).
10. Elöntöttük a felülúszót, ezt követően 30 perc alatt beszárítottuk a pelletet.
11. A pellet visszaoldása 25 µl RNase TE-ben [1 ml 10-szeres TE; 9 ml steril desztillált víz; 10 µl RNase (10 mg/ml)] történt, 10 perc állás után Vortex-szel összekevertük.

Inzert ellenőrzés

A PCR termékek beépülésének ellenőrzése Fast Digest *EcoRI* restrikciós enzimmel történt. Ehhez az alábbi összetevőket mértük össze steril Eppendorf csövekbe, melyeket 37 °C-on 10 percig inkubáltunk.

- 3 µl plazmid,
- 1 µl FD *EcoRI* enzim,
- 1 µl FD Green puffer,
- 5 µl steril desztillált víz.

Ezt követően 1 %-os agaróz gélen való futtatással ellenőriztük az eredményt.

Plazmid tisztítás

A kiválasztott klónokat masterplate-ről 2 ml ampicillin tartalmú, folyékony LB táptalajba oltottuk, és 37 °C-on rázattuk (200 rpm) egy éjszakán át. A következő reggelen a baktériumkultúrákat steril Eppendorf csövekbe töltöttük, és centrifugáltuk 3 percig. A plazmid DNS-t Quantum Prep Plasmid Miniprep Kittel tisztítottuk, a gyártó utasításainak megfelelően.

3.3.14. Nukleinsav szekvenciák meghatározása, analízise és filogenetikai törzsfák készítése

A tisztított és/vagy klónozott termékeket nukleotid bázissorrendjük meghatározásához Hollandiába küldtük (BaseClear B. V., Leiden). A kapott nukleotid szekvenciák kromatogramjait a FinchTV (Geospiza, Inc.; Seattle, WA, USA) 1.4.0. verziójában ellenőriztük. A filogenetikai törzsfák elkészítéséhez az NCBI GenBank adatbázisban elérhető, *Pectobacteriaceae* családba tartozó néhány típus törzs, valamint a Magyarországról és más országokból származó, ismertén kéregrákot és nyálkafolyást okozó, *Brenneria* és *Lonsdalea* nemzetség törzseinek 16S rRNS, *atpD*, *gyrB*, *infB* és *rpoB* gén szekvenciáit töltöttük le. A filogenetikai törzsfákhoz felhasznált izolátumok szekvenciáival kapcsolatos információkat a 3. és 5. számú mellékletben soroltuk fel.

A filogenetikai törzsfákhoz a szekvenciákat a ClustalW programban illesztettük (Thompson et al. 1994). Ezt követően a megfelelő szubsztitúciós modellt és paramétereket a MEGA7 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) szoftverben rendelkezésre álló modellteszt eredménye alapján választottuk ki (Nei és Kumar 2000, Kumar et al. 2016). A filogenetikai törzsfákat a MEGA7 szoftverben készítettük el (Kumar et al. 2016). A 16S rRNS régió elemzéséhez a következő beállításokat alkalmaztuk: Kimura 2-parameter modell (Kimura 1980), Maximum Likelihood statistical method, bootstrap method (1000 ismétléssel), Gamma distribution with invariant sites (G+I), Partial deletion of gaps/missing data treatment with a 95% cutoff. A törzsfán az elágazásoknál az 50% feletti bootstrap értékek láthatóak.

A multilókuszos szekvencia analízist (MLSA) a *gyrB*, *rpoB*, *atpD* és *infB* háztartási génekkel végeztük, melyhez a négy alignmentet a MEGA11 szoftverben rendelkezésre álló programmal kapcsoltuk össze, majd a modellteszt alapján kiválasztottuk a megfelelő szubsztitúciós modellt (Tamura et al. 2021). A törzsfákat azonban a 16S rRNS génszakaszhoz hasonlóan a MEGA7 verziójában készítettük. Az MLSA törzsfá generálásához a következőket állítottuk be: Tamura-Nei modell (Tamura és Nei 1993), Maximum Likelihood statistical method, bootstrap method (1000 ismétléssel), Gamma distribution with invariant sites (G+I), Partial deletion of

gaps/missing data treatment with a 95% cutoff. A törzsfán az elágazásoknál az 50% feletti bootstrap értékek láthatóak.

A filogenetikai törzsfákhoz készített illesztéseken mindkét esetben a CLC Genomics Workbench 8.5 szoftverben elérhető páronkénti összehasonlítást is végeztünk (Internet2). Az elkészített táblázatok a 4. és 6. számú mellékletben találhatóak. A táblázatban az alsó részen szereplő adatok a szekvenciák közötti azonosságot mutatják, százalékban kifejezve, a felső részen szereplő adatok a szekvenciák közötti bázis-eltéréseket jelentik, darabszámban megadva. A fehér, piros és rózsaszín árnyalatú cellák a magasabb értékeket jelölik, míg a kék árnyalatok az alacsonyabb értékeket.

4. EREDMÉNYEK

2012 és 2019 között 13 helyszínen gyűjtöttünk mintákat kéregbetegséget és baktériumnyálka folyást mutató fákról. Összesen 39 izolátumot vizsgáltunk klasszikus és molekuláris módszerekkel. Két izolátum (Juglans1, Juglans2) származott *Juglans regia* gazdanövényről, melyeket Zánkán (2012) és Látványban (2013) gyűjtöttünk. Egy izolátum (Salix1) származott *Salix alba* gazdanövényről, melyet Budapesten (2012) gyűjtöttünk. 11 izolátum (Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5, Pl6, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11) származott *Platanus x acerifolia* gazdanövényről, melyeket Budapesten (2013, 2016, 2017), Zamárdiban (2013), Bázakerettyén (2013), Siófokon (2013, 2016) és Balatonfüreden (2016) gyűjtöttünk. 10 izolátum (Ulmus1, Ulmus2, Ulmus3, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10) származott *Ulmus* gazdanövényről, melyeket Budapesten (2013) és Kecskeméten (2014, szilfaerdő) gyűjtöttünk. Hét izolátum (Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet6, Bet7) származott *Betula pendula* gazdanövényről, melyeket Budapesten (2014, 2016), Szentendrén (2015), Leányfalun (2015) és Nyírderszen (2017) gyűjtöttünk. Egy izolátum (Pop1) származott *Populus nigra* gazdanövényről, melyet Budapesten (2015) gyűjtöttünk. Két izolátum (Morus1, Morus2) származott *Morus alba* gazdanövényről, melyeket Budapesten (2016, 2017) gyűjtöttünk. Öt izolátum (Aes1, Aes2, Aes3, Aes4, Aes5) származott *Aesculus hippocastanum* gazdanövényről, melyeket Budapesten (2015, 2018, 2019), Ebesen (2017) és Mátészalkán (2017) gyűjtöttünk.

Tekintve az izolátumok számát, és az elvégzett vizsgálatok sokaságát, a könnyebb átláthatóság érdekében a 2. számú mellékletben összefoglaltam az izolátumainkkal kapcsolatos adatokat, néhány izolátum esetén hiányoznak vizsgálatok, ezeket külön jeleztem a táblázatban.

A következő pontokban elsőként a klasszikus vizsgálati módszerek (Gram tulajdonság, hiperszenzitív reakció indukáló képesség, biokémiai és patogenitási tesztek) eredményeit mutatom be, amelyeket minden izolátumunk esetén elvégeztünk. Külön pontban ezeket követik a *Brenneria nigrifluens* gyors azonosítási vizsgálat eredményei zöld dión, amelyeket az izolátumok egy részénél végeztünk el, amit az Anyag és módszer c. fejezetben ismertettem.

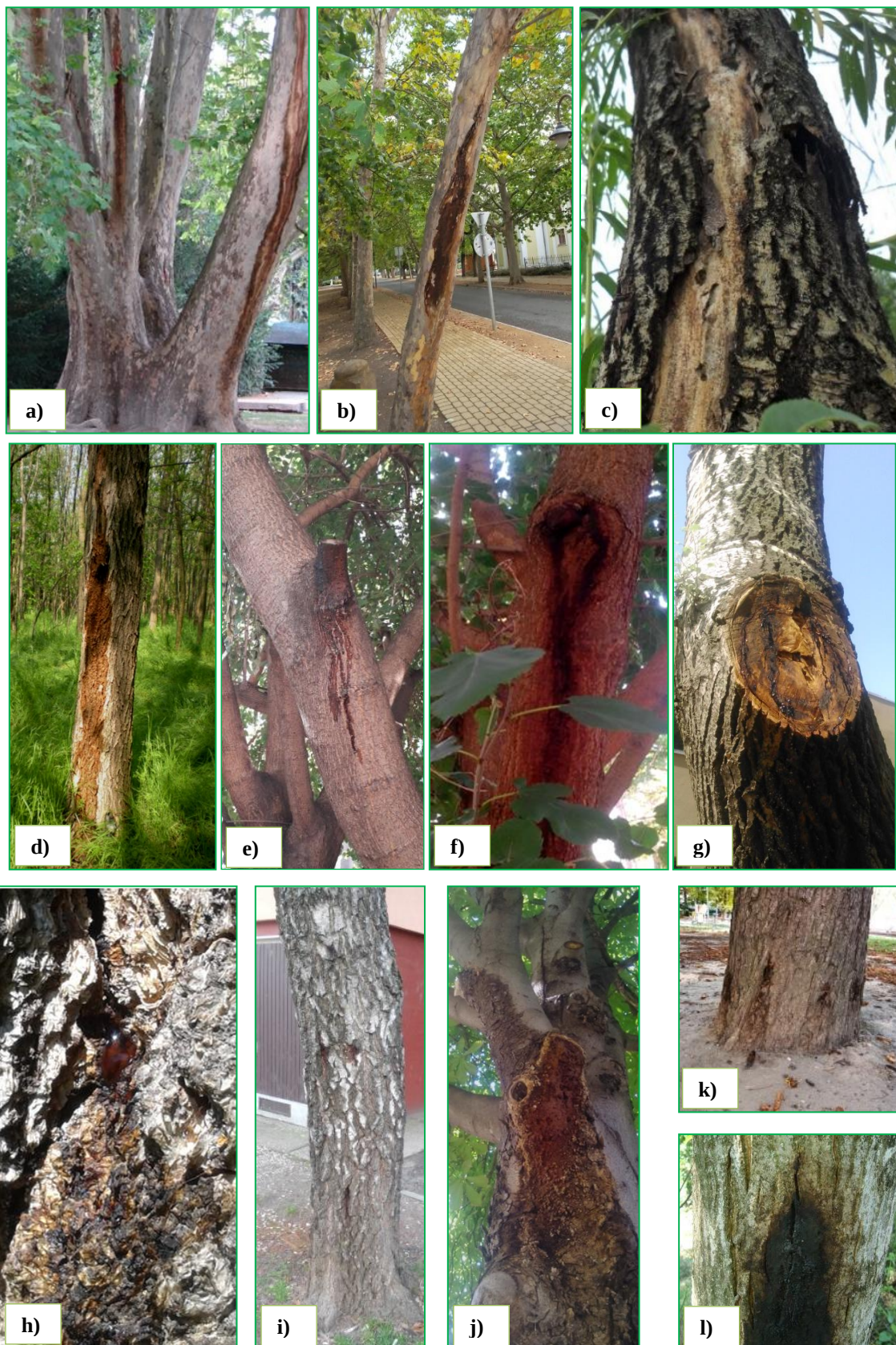
A molekuláris vizsgálati módszerek eredményein belül a 16S rRNS génszakasz alapján készített filogenetikai törzsfa elemzése kerül bemutatásra az első pontban, amelyhez 37 izolátumunk szekvenciája áll rendelkezésre. Ezt követi a négy háztartási génszakasz (*atpD*, *gyrB*, *infB*, *rpoB*) alapján készített MLSA törzsfa elemzése, amelyhez 12 izolátumunk szekvenciáit használtam fel.

4.1. A KÓROKOZÓK ÁLTAL OKOZOTT TÜNETEK MEGÁLLAPÍTÁSA

2012 és 2019 között, az ország több pontján jellegzetes tüneteket figyeltünk meg díszfákon és dión. A fák törzsén kisebb-nagyobb méretű, sekély repedések voltak láthatóak, a fűzfa kivételével, melynek törzsén hosszirányban, nagy mértékben felnyílt a kéreg (18/c ábra), és a fán részleges ágelhalás volt megfigyelhető.

Nyár végétől, augusztustól nyálkafolyást tapasztaltunk ezekből a kéregrepedésekből, és sok esetben a metszési sebekből, valamint a növényvédelmi kezelésben részesült fákon az injektálás pontjaiból (18/k ábra). A szivárgó váladék mennyisége, állaga, színe hasonló volt a dión, eperfákon, nyárfán, nyírfákon, platánokon és vadgesztenyéken: sötétbarna színű és kisebb mennyiségű volt (18/a, b, e, f, g, h, i, j, l ábra). A platánfák esetén a látványhoz kellemetlen, savanyú szag is társult. A baktériumnyálka megjelenése a szilfákon kis mértékben különbözött, állaga sűrűbb, nyálkásabb volt, nagyobb mennyiségben volt jelen a törzs kérgén és felülete fényes volt (18/d ábra). A legintenzívebb váladékszivárgást az őszi időszakban tapasztaltuk, különösen a párás és meleg időjárási körülmények között. A bőséges baktériumnyálka akár több méter hosszan is végigfutott a fák törzsén, különböző színűre festve azt.

A tüneteket egyaránt tapasztaltuk a közterületeken, parkokban és házikertekben lévő fásszárú növényfajokon. A városi környezetben jelentős stressznek vannak kitéve a növények, ami vélhetően csökkenti ellenállóképességüket, ezáltal fogékonyabbak lesznek a különböző biotikus tényezőkre. Emellett a klímaváltozás is egy további tényező, amely hozzájárulhat a fák kondíciójának további gyengüléséhez.

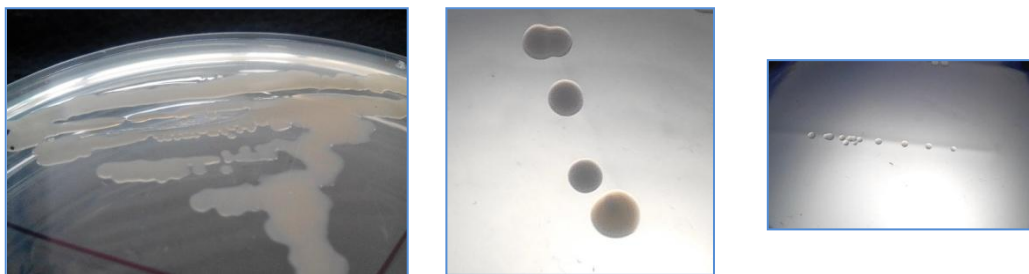


18. ábra: Az izolált kórokozók által okozott jellegzetes tünetek a, b) platánokon nyálkafolyás (fotó: Dávid); c) fűzfa törzsén felnyílt kéreg (fotó: Karacs-Végh); d) szilfán nyálkafolyás (fotó: Karacs-Végh); e, f) eperfákön nyálkafolyás (fotók: Tenorio-Baigorria); g) nyárfán nyálkafolyás (fotó: Tenorio-Baigorria); h, i) nyírfákön nyálkafolyás (fotók: Galambos, Tenorio-Baigorria); j, k) vadgesztenyék törzsén megfigyelt nyálkafolyás (fotók: Tenorio-Baigorria) és váladékszivárgás az injektálás helyén (Gyuris); l) dión nyálkafolyás (fotó: Borsos)

4.2. KLASSZIKUS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK EREDMÉNYEI

4.2.1. *Tenyészbélyegek megállapítása*

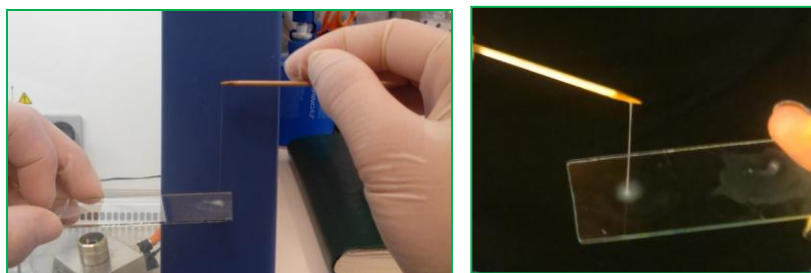
A dióról, eperfáról, fűzfáról, nyárfáról, nyírfáról, platánról, szilfáról és vadgesztenyéről származó izolátumok (Juglans1, Juglans2, Salix1, Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5, Pl6, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11, Ulmus1, Ulmus2, Ulmus3, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10, Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet6, Bet7, Pop1, Morus1, Morus2, Aes1, Aes2, Aes3, Aes4, Aes5) King B táptalajon, szobahőmérsékleten (~26 °C) tenyésztetők voltak, és gyorsan fejlődtek. A vizsgált izolátumok tenyészbélyegei megegyeztek, a kolóniák sima felületűek, épszelűek, kör alakúak, krémszínűek voltak, enyhe kékes árnyalattal és a táptalaj felületéről enyhén kiemelkedtek (19. ábra).



19. ábra: Az Aes1, Bet6 és Juglans2 kódú izolátumok tenyészetei és a kolóniák megjelenése King B táptalajon (fotók: Tenorio-Baigorria)

4.2.2. *Gram tulajdonság*

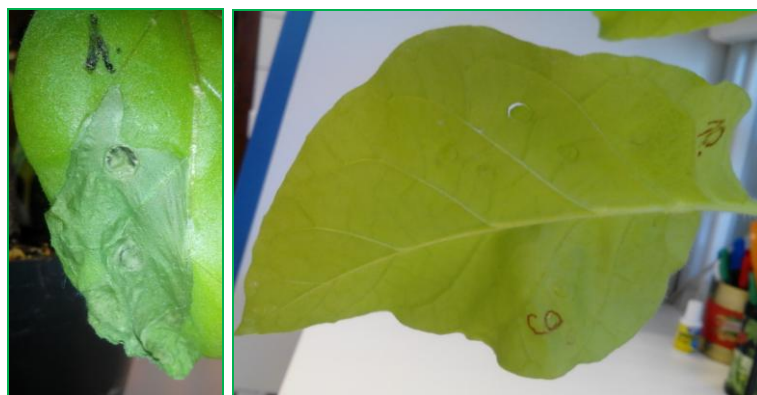
A 3%-os KOH oldat mind a 39 izolátum (Juglans1, Juglans2, Salix1, Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5, Pl6, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11, Ulmus1, Ulmus2, Ulmus3, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10, Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet6, Bet7, Pop1, Morus1, Morus2, Aes1, Aes2, Aes3, Aes4, Aes5) esetében feloldotta a baktériumok sejtfalát, tehát az általunk dióról, eperfáról, fűzfáról, nyárfáról, nyírfáról, platánról, szilfáról és vadgesztenyéről izolált baktériumfajok Gram-negatívak (20. ábra).



20. ábra: Gram-negatív baktériumok (fotók: Tenorio-Baigorria)

4.2.3. *Hiperszenzitív reakció*

A saját *Erwinia amylovora* (Ea1) és *Brenneria rubrifaciens* (DSM 4483) baktériumfajok törzsei minden esetben jól látható nektrózt okoztak a szuszpenziójukkal inokulált dohány növények (*Nicotiana tabacum* L. cv. 'Xanthi') levelén. A dióról, platánról, szilről, nyírről, nyárról, fűzről, eperfáról és vadgesztenyéről származó 39 izolátum (Juglans1, Juglans2, Salix1, Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5, Pl6, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11, Ulmus1, Ulmus2, Ulmus3, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10, Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet6, Bet7, Pop1, Morus1, Morus2, Aes1, Aes2, Aes3, Aes4, Aes5) szuszpenziójával injektált dohány leveleken 24 és 48 óra elteltével, egyik esetben sem alakult ki szöveti nektrózis, amely a hiperszenzitív reakciót jelzi (21. ábra).



21. ábra: *Erwinia amylovora* (Ea1) és platán (Pl1, Pl2) izolátumokkal inokulált dohánylevelek (fotók: Tenorio-Baigorria)

4.2.4. *Biokémiai tulajdonságok vizsgálata*

A vizsgálatot mind a 39 izolátumunk (Juglans1, Juglans2, Salix1, Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5, Pl6, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11, Ulmus1, Ulmus2, Ulmus3, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10, Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet6, Bet7, Pop1, Aes1, Aes2, Aes3, Aes4, Aes5, Morus1, Morus2) szuszpenziójával elvégeztük az API 20E biokémiai teszt alkalmazásával, melynek eredményeit a 8. táblázat tartalmazza.

A vadgesztenyéről gyűjtött 5 izolátum (Aes1, Aes2, Aes3, Aes4, Aes5) biokémiai tulajdonságai többségében (18 reakció) megegyeztek, nagyjából homogének, az Aes1 izolátum acetoin termelés és glükóz fermentáció/oxidáció reakciókban adott más eredményt. Emellett az Aes1 izolátum a táblázat 13. számú platán izolátumokkal minden reakcióra egyező eredményt adott. A többi vadgesztenyéről származó izolátum a Juglans1 törzssel 18 tulajdonságban megegyezett.

A *nyírfáról* származó hét izolátum (Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet6, Bet7) a triptofán deamináz, glükóz fermentáció/oxidáció és szorbit fermentáció/oxidáció reakciókra eltérő, minden más reakcióra ugyanazt az eredményt adták. Az izolátumok tulajdonságainak különbözősége arra utal, hogy heterogén csoportot képeznek. Továbbá, a Bet1 izolátum a Juglans2 izolátummal 18 tulajdonságban, a Bet2 és Bet3 izolátumok szintén a Juglans2 izolátummal 17 tulajdonságban megegyeztek. A Bet4 törzs a Pop1, Juglans2 és a *platánfáról* származó 10 törzs eredményei 17 reakcióban egyeztek meg. A Bet5 izolátum Pop1 és Juglans2 izolátumokkal szintén 17 tulajdonságban ugyanazt az eredményt adták. A Bet6 és Bet7 törzsek esetén pedig a Pop1 izolátummal kaptuk a legtöbb, 18 tulajdonságban egyező eredményt.

A *nyárfáról* gyűjtött izolátum (Pop1) a *nyírfáról* származó izolátumok mellett az öt *vadgesztenye* és tíz *platán* izolátummal 16 reakció esetén adott egyező eredményt.

A budapesti és kecskeméti *szilfákról* gyűjtött tíz izolátum (Ulmus1, Ulmus2, Ulmus3, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10) minden tulajdonsága megegyezett, homogén csoportot alkottak. Emellett a Juglans2 és Pl6 izolátumokkal 18 tulajdonságban mutatott egyezést.

A Juglans1 és Juglans2 izolátumok egymáshoz képest a reakciók közel felére (9 reakció) eltérő eredményt adtak. A Juglans1 18 tulajdonságban a Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10 és Pl11 izolátumokkal, a Juglans2 pedig az Aes1, Bet1, a 10 szilfa izolátummal és 11 platán izolátummal 18 tulajdonságban egyezett meg.

A *platánfáról* származó 10 törzs (Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11) homogén csoportot alkotott, minden biokémiai reakcióban egyező eredményt adtak, egy kivétel volt, a Pl6 izolátum, amely két reakciónál (β -galaktozidáz és szorbit fermentáció/oxidáció) eltért. Emellett a Pl6 megegyezett 18 tulajdonságban az Aes1, Juglans2, valamint a 10 *szilfáról* származó izolátummal.

Az *eperfáról* gyűjtött két izolátum (Morus1, Morus2) biokémiai reakciói minden teszt esetén megegyeztek, homogének voltak. A többi gazdanövényről származó izolátum közül a Pl6 törzsszel 14 reakcióra adtak egyező eredményt.

A 39 fent említett izolátum biokémiai tulajdonságai a következő reakciókban egyeztek meg: arginin dihidroláz, lizin decarboxiláz, indol termelés, gelatináz és arabinóz fermentáció/oxidáció.

8. táblázat: A díszfákról és dióról származó izolátumaink biokémiai tulajdonságai

Reakció/enzim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
β -galaktozidáz	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
Arginin dihidroláz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lizin decarboxiláz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ornitin decarboxiláz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Citrát hasznosítás	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
H ₂ S termelés	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Ureáz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
Triptofán deamináz	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-
Indol termelés	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetoin termelés	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
Gelatináz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glükóz fermentáció/oxidáció	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannit fermentáció/oxidáció	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
Inozit fermentáció/oxidáció	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
Szorbit fermentáció/oxidáció	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+
Ramnóz fermentáció/oxidáció	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+
Szacharóz fermentáció/oxidáció	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Melibióz fermentáció/oxidáció	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-
Amigdalín fermentáció/oxidáció	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
Arabinóz fermentáció/oxidáció	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Izolátumok: **1:** Aes1; **2:** Aes2, Aes3, Aes4, Aes5; **3:** Bet2, Bet3; **4:** Bet4; **5:** Bet1; **6:** Bet6, Bet7; **7:** Bet5; **8:** Pop1; **9:** Ulmus1, Ulmus2, Ulmus3, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10; **10:** Juglans1; **11:** Juglans2; **12:** Salix1; **13:** Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11; **14:** Pl6; **15:** Morus1, Morus2

+: pozitív; -: negatív; A különböző gazdanövényről származó törzseket más-más színekkel emeltem ki.

4.2.5. Patogenitási vizsgálat

A patogenitási vizsgálatot 37 izolátumunk esetén végeztük el.

Hajtásfertőzés:

A fertőzési pontnál kisméretű, nekrotikus léziókat tapasztaltunk minden izolátumunk esetén. Egy fűzfáról (Salix1), tíz szilfáról (Ulmus1, Ulmus2, Ulmus3, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10) és öt platánról (PL7, PL8, PL9, PL10, PL11) gyűjtött

izolátumnál az inokuláció helyéhez közeli leveleken hervadást, barnulást, száradást és hajtáselhalást tapasztaltunk (22. ábra).



22. ábra: Hajtásszáradás fűzfán (fotó: Soós), és halvány, sötét sávok, léziók dión (fotó: Karacs-Végh)

A hajtásokat kettévágva halvány, feketés sávok, gyengébb tünetek voltak láthatóak egy dióról (Juglans1), két eperfáról (Morus1, Morus2), egy nyárfáról (Pop1), hét nyírfáról (Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet6, Bet7), tíz platánról (Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11) és öt vadgesztenyéről (Aes1, Aes2, Aes3, Aes4, Aes5) származó izolátumunk esetén. A betegségre jellemző repedések a kérgen, valamint váladékfolyás egy izolátumunk esetén sem jelent meg – három hónapot követően sem.

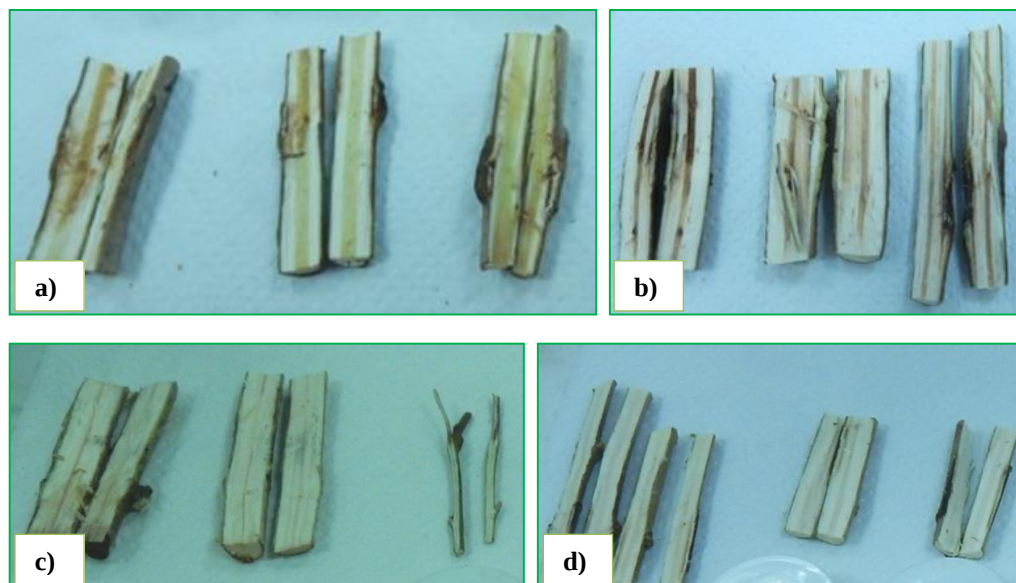
Törzs sebzés:

A törzs sebzés módszert 18 izolátumunk esetén végeztük el. A törzsön ejtett sebzések az esetek többségében beforrtak (23. ábra), nekrosis és barna sávok a törzs félbevágásával váltak láthatóvá. Az említett tünetek két eperfáról (Morus1, Morus2), egy nyárfáról (Pop1), hét nyírfáról (Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet6, Bet7), öt platánról (Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5) és három vadgesztenyéről (Aes1, Aes4, Aes5) származó izolátumra volt jellemző (24/a, b ábra).



23. ábra: Az inokulált törzseken látható begyógyult sebzések *Betula pendula* (Bet4 izolátum), *Morus alba* (Morus1 izolátum) és *Platanus x acerifolia* (Pl5 izolátum) csemetéken (fotók: Tenorio-Baigorria)

A vízzel inokulált kontroll növényeknél nem tapasztaltunk nekrozist, és sötét színű sávokat sem (24/c, d ábra).



24. ábra: A kettévágott törzseken látható nekrozisok és barna sávok a) vadgesztenye (Aes4 izolátum) és b) nyárfá (Pop1 izolátum) gazdanövényeken; c) nyírfá és d) eperfa kontroll növények (víz) (fotók: Tenorio-Baigorria)

A 25. ábrán látható tünetek a nyírfákról származó izolátumok (Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet6, Bet7) mindegyikénél, 1–1 ismétlés esetén az előbbtől eltérő tünetek jelentek meg. Már a fertőzéstől számított második hónapban tapasztaltuk a sebzés körül megjelenő feketedést. A hajtásokat kettévágva láthatóvá vált, hogy ez nem hatolt a mélyebb szövetekbe.



25. ábra: Bet3, Bet2, Bet1, Bet6 és Bet5 izolátumok értékelésekor tapasztalt feketedés a sebzés körül (fotók: Tenorio-Baigorria)

Baktériumnyálka a fertőzést követő három hónappal sem jelent meg. Három hónap elteltével, az értékelést követően a fertőzött csemetékről mindkét fertőzési módszernél sikeresen visszaizoláltuk a kórokozókat. A visszaizolált baktériumok közül szűrőpróbaszerűen kiválasztottunk néhányat, és a 16S rRNS génszakasz felszaporítását követően elküldtük szekvencia meghatározásra. A kapott szekvenciákat ellenőrizve minden esetben *Brenneria* fajt azonosítottunk. A negatív kontrollok esetén nem figyeltünk meg elváltozást, nekrozist vagy nyálkafolyást.

A hajtásfertőzésnél pozitív kontrollként alkalmazott *Lonsdalea populi* NY060 törzs értékelésénél a fentebb említett, enyhe, nem tipikus tüneteket (hajtásokat kettévágva halvány, feketés sávok) tapasztaltunk. Azonban a második módszerrel való fertőzés értékelésekor nagyobb mértékű nekrozis alakult ki, valamint egy esetben a kettévágott törzsön V-alakú barnulást jegyeztünk fel (26. ábra).



26. ábra: A kettévágott törzseken kialakult nekrozis és V-alakú barnulás *Populus x euramericana* gazdanövényen (*Lonsdalea populi* NY060) (fotók: Tenorio-Baigorria)

4.2.6. *Brenneria nigrifluens* kórokozó gyors azonosítása zöld dión

A Moretti és Buonauro (2010) által kidolgozott gyors azonosítási vizsgálat során 29, egy dióról (*Juglans*1), egy fűzfáról (*Salix*1), hat platánról (Pl6, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11), tíz szilfáról (*Ulmus*1, *Ulmus*2, *Ulmus*3, *Ulmus*4, *Ulmus*5, *Ulmus*6, *Ulmus*7, *Ulmus*8, *Ulmus*9, *Ulmus*10), hét nyírfáról (Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet6, Bet7), egy nyárfáról (Pop1), két eperfáról (*Morus*1, *Morus*2) és egy vadgesztenyéről (*Aes*1) származó izolátum szuszpenziójával inokuláltuk a zöld dióterméseket külön-külön.

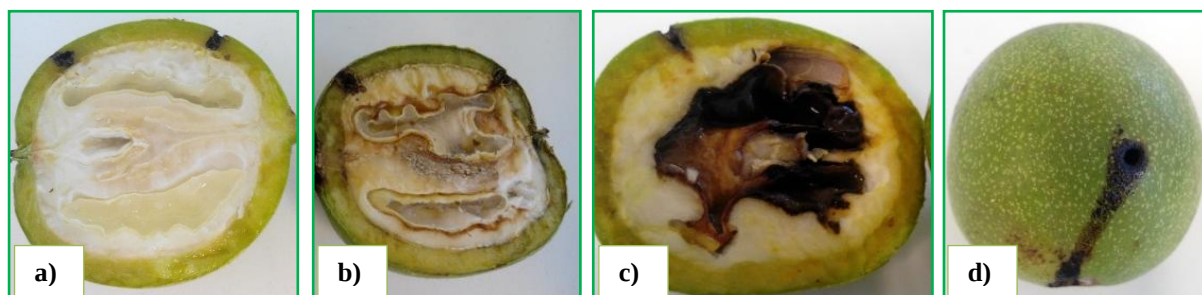
A Bet1, Bet2, Bet3, Bet5, Bet6, Bet7, Pl6, *Salix*1, *Ulmus*1, *Ulmus*2, *Ulmus*3, *Ulmus*4, *Ulmus*5, *Ulmus*6, *Ulmus*7, *Ulmus*8, *Ulmus*9, *Ulmus*10, *Morus*1 és *Morus*2 izolátumok esetén az inokulációs pont körül nekrotizálódtak a sejtek, de baktériumnyálka nem volt látható, és a dióbél ép maradt (27/a ábra).

Az *Aes*1, *Juglans*1, Pl7, Pl8, Pl10 és Pl11 izolátumokkal történt fertőzés értékelésekor a szúrás helye körül nekrozist tapasztaltunk, valamint a dióbél enyhén barnult, vizenyős volt (27/b ábra).

A Bet4 és Pl9 izolátummal való fertőzés eredményeképpen az inokulációs pont körüli nekrosis mellett a dióbél elfeketedése, elfolyósodása volt látható (27/c ábra).

A Pop1 izolátum esetén a fertőzési pont körüli nekrosis mellett baktériumnyálka szivárgás is megjelent (27/d ábra).

A típus törzsek közül a *Brenneria nigrifluens* izolátum (DSM 30175) esetén a fertőzési pont nekrotizálódott, valamint a dióbél elfeketedett, elfolyósodott. A többi típus törzse (*Brenneria alni* DSM 11811, *Brenneria rubrifaciens* DSM 4483, *Brenneria salicis* DSM 30166, *Lonsdalea quercina* DSM 4561) és az *Erwinia amylovora* (Ea1) izolátumai nem váltottak ki értékelhető tünetet. A *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* (Xj1) esetében is tapasztaltunk fertőzést, kismértékű elfeketedést, de a dióbél nem folyósodott el.



27. ábra: a) Bet5, b) *Aes*1, c) Bet4 és d) Pop1 izolátumokkal fertőzött diótermések az inokulálást követő 7 nappal (fotók: Tenorio-Baigorria)

4.3. MOLEKULÁRIS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK EREDMÉNYEI

4.3.1. Azonosítás a 16S rRNS gén vizsgálata alapján

A 16S rRNS gén vizsgálata során körülbelül 1300 bázispár hosszúságú PCR termékek keletkeztek, melyek szekvenciáját klónozást követően meghatároztattuk. A dióról (Juglans1), fűzfáról (Salix1), nyárfáról (Pop1), platánról (Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11), szilről (Ulmus1, Ulmus2, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6) és vadgesztenyéről (Aes1, Aes2, Aes3) származó izolátumok esetében a 16S rRNS gén szekvenciákat feltöltöttük a nemzetközi adatbankba (NCBI), melyeknek hivatkozási számait a 7. számú mellékletben részleteztük. További, 14 saját kóddal ellátott izolátum (Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10, Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet7, Morus1, Morus2, Aes4, Aes5) nukleotid sorrendjének feltöltése még folyamatban van.

A páronkénti összehasonítás során 37 izolátumunk szekvenciáját vetettük össze az NCBI GenBankból letöltött 22 *Brenneria* törzs szekvenciájával, amelynek eredményét a 4. számú melléklet tartalmazza. A következő izolátumok a *B. populi* Hauben et al. 1998 YMAPO5 iráni törzs szekvenciájával egyeztek meg legnagyobb mértékben: Juglans1, Juglans2 (94,45–94,52%-ban), Salix1 (97,26%-ban), Pl1–11 (91,19–94,60%-ban), Ulmus1–10 (93,41–93,86%-ban), Bet5 (85,05%-ban), Pop1 (96,60%-ban), Morus1, Morus2 (92,75–92,97%-ban), Aes1, Aes2, Aes3 (91,71%-ban). Emellett a *B. nigrifluens* OR1 szerbiai törzs szekvenciája 89,40–89,92%-ban a Bet1, Bet3, Bet4, Bet7 és 92,27%-ban az Aes4 izolátumokkal mutatott azonosságot. Továbbá, a Bet2 izolátum 89,14%-ban, az Aes5 izolátum szekvenciája pedig 90,10%-ban egyezett meg a *B. tiliae* EX1a törzs szekvenciájával.

A részleges 16S rRNS gén szekvenciáin alapuló filogenetikai törzsfá (28. ábra) 37 izolátumunk (Juglans1, Juglans2, Salix1, Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5, Pl6, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11, Ulmus1, Ulmus2, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10, Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet6, Pop1, Morus1, Morus2, Aes1, Aes2, Aes3, Aes4, Aes5) rokonsági viszonyait mutatja a *Pectobacteriaceae* család 35 törzsének (*Brenneria* spp., *Dickeya* spp., *Lonsdalea* spp., *Pectobacterium* spp.) szekvenciáihoz hasonlítva. Outgroupként a *Plesiomonas shigelloides* NCIMB 9242 típus törzset használtam, amely egy Németországból származó humán patogén baktériumfaj. A törzsfát 73 izolátum szekvenciái alkotják.

A *Juglans1* azonosítási kódú, dióról gyűjtött izolátum, valamint a tíz platánról (Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11) és az öt vadgesztenyéről (Aes1, Aes2, Aes3, Aes4, Aes5) származó izolátum egymás közelében, egy külön ágon helyezkednek el. A platán izolátumok közül a Pl1 és Pl2, a Pl7, Pl10 és Pl11 alkot egy csoportot, a Pl3, Pl4 és Pl5, Pl9 izolátumok a *Juglans1*

(dióról), valamint a PL8 törzzsel egy külön csoportba, illetve a vadgesztenyéről gyűjtött izolátumok (Aes1, Aes2, Aes3, Aes5) egy harmadik csoportba rendeződtek. Az említett platán és vadgesztenye izolátumoktól elkülönülten helyezkedik el az Aes4 törzs. Ezekhez az izolátumokhoz az NCBI GenBank adatbázisban rendelkezésre álló *Brenneria* fajok közül a Kínából, nyárfáról származó *B. corticis* gBX10-1-2, a hársfáról, Nagy-Britanniában izolált *B. tiliae* WC1b.1 típus törzs és EX1a törzs, valamint az Egyesült Államokban, közönséges dióról izolált *B. nigrifluens* típus törzs (DSM 30175), a szerbiai OR1 és a BNK1 izolátumok, továbbá a *Juglans*2 és Pl6 izolátumaink állnak legközelebbi rokonsági kapcsolatban.

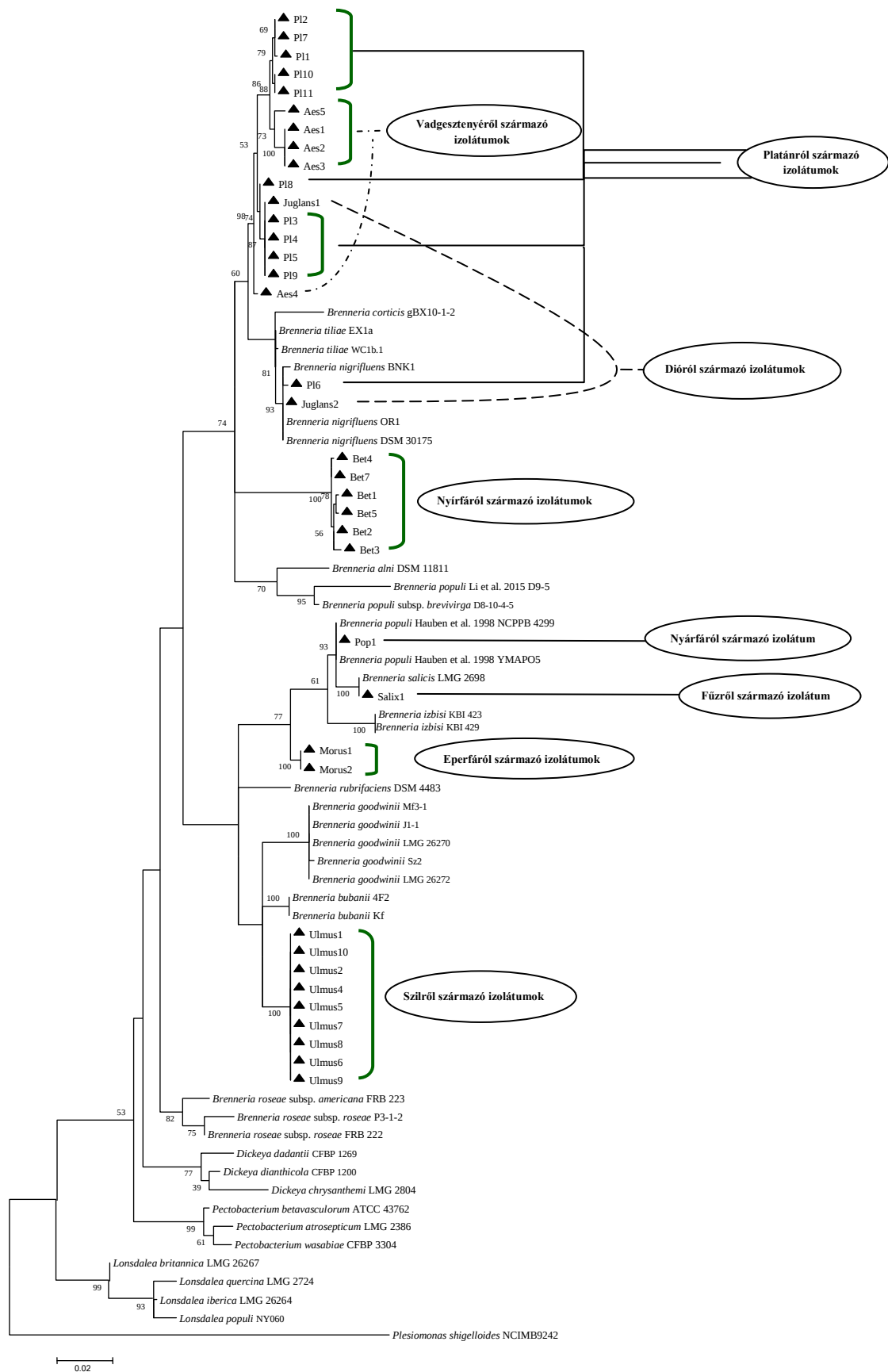
A nyírfáról gyűjtött izolátumok (Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet7) egymáshoz viszonyítva szintén kis mértékben különböznek, de egy elkülönült csoportba rendeződtek. A törzsfán két klád között helyezkednek el, a fentebb említett *B. corticis*, *B. tiliae* és *B. nigrifluens* fajok, illetve a *B. alni* (éger, Olaszország) és *B. populi* Li et al. 2015 (nyárfa, Kína) fajok között.

Egy ágon csoportosul a Pop1, fekete nyárfáról gyűjtött izolátumunk és a *B. populi* Hauben et al. 1998 NCPPB 4299, spanyolországi, nyárfáról származó típus törzs, valamint az iráni *B. populi* YMAPO5 törzs.

A Salix1 azonosítási kódú izolátum (fűzfáról) egy ágon helyezkedik el a *B. salicis* LMG 2698 típus törzzsel, amelyet Nagy-Britanniában, fűzfáról izoláltak.

Külön ágon található a két eperfa izolátumunk (Morus1, Morus2), melyekhez a két szerbiai, közönséges dióról gyűjtött *B. izbisi* izolátum (KBI 423^T, KBI 429), a fűzfáról származó *B. salicis* típus törzs (LMG 2698), és a nyárfáról azonosított *B. populi* Hauben et al. 1998 izolátumok (NCPPB 4299, YMAPO5) vannak legközelebbi rokonságban.

Az Ulmus1, Ulmus2, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10 izolátumok szinte teljes mértékben megegyeznek egymással, és külön ágon, egy csoportban vannak. Hozzájuk legközelebb álló rokon fajok a hazánkban azonosított *B. bubanii* (4f2, Kf) és a *B. goodwinii* fajok (LMG 26270, LMG 26272, Mf3-1, J1-1, Sz2), utóbbiak az akut tölgypusztulás (AOD) kialakulásában szerepet játszó baktériumok, amelyeket Nagy-Britanniában izoláltak. Az Mf3-1 izolátum *Acer campestre*, a J1-1 izolátum *Quercus robur* és az Sz2 izolátum *Q. cerris* gazdanövényekről származnak és Magyarországon izolálták őket.



28. ábra: Maximum likelihood módszerrel készített filogenetikai törzsfa a *Pectobacteriaceae* család 35 törzsének (*Brenneria* spp., *Dickeya* spp., *Lonsdalea* spp., *Pectobacterium* spp.), valamint 37 saját izolátumunk részleges 16S rRNS gén szekvenciái alapján

Megjegyzések: Outgroup: *Plesiomonas shigelloides* NCIMB9242. Az elágazások melletti számok a bootstrap értékeket jelölik, %-ban megadva. Izolatumainkat a ▲ szimbólummal emeltem ki. A skála 0,02 szubsztitúciót jelent nukleotid pozícióként.

4.3.2. Azonosítás a háztartási gének vizsgálata alapján

Az *atpD* gén vizsgálata során körülbelül 657 bázispár hosszúságú PCR termékek keletkeztek, és 18 izolátum szekvenciáját határoztuk meg, melyek közül egy dióról (Juglans2), egy fűzfáról (Salix1), hat platánfáról (Pl6, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11) és tíz szilfáról (Ulmus1, Ulmus2, Ulmus3, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10) származott.

A *gyrB* gén vizsgálata során körülbelül 742 bázispár hosszúságú PCR termékeket kaptunk, és 23, egy dióról (Juglans1), hat platánról (Pl6, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11), nyolc szilfáról (Ulmus1, Ulmus2, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9), hat nyírfáról (Bet1, Bet2, Bet4, Bet5, Bet6, Bet7), egy nyárfáról (Pop1) és egy vadgesztenyéről (Aes1) gyűjtött izolátum nukleotid sorrendjét határoztuk meg.

Az *infB* gén vizsgálata során körülbelül 615 bázispár hosszúságú PCR termékek keletkeztek, és meghatároztuk 18, egy dióról (Juglans2), egy fűzfáról (Salix1), hat platánról (Pl6, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11) és tíz szilfáról (Ulmus1, Ulmus2, Ulmus3, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10) származó izolátum szekvenciáját.

Az *rpoB* gén vizsgálata során körülbelül 637 bázispár hosszúságú PCR termékeket kaptunk. Vizsgálataink során 24, egy fűzfáról (Salix1), öt platánról (Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11), tíz szilfáról (Ulmus1, Ulmus2, Ulmus3, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus10), hat nyírfáról (Bet1, Bet2, Bet4, Bet5, Bet6, Bet7), egy nyárfáról (Pop1) és egy vadgesztenyéről (Aes1) gyűjtött izolátum szekvenciáját határoztuk meg.

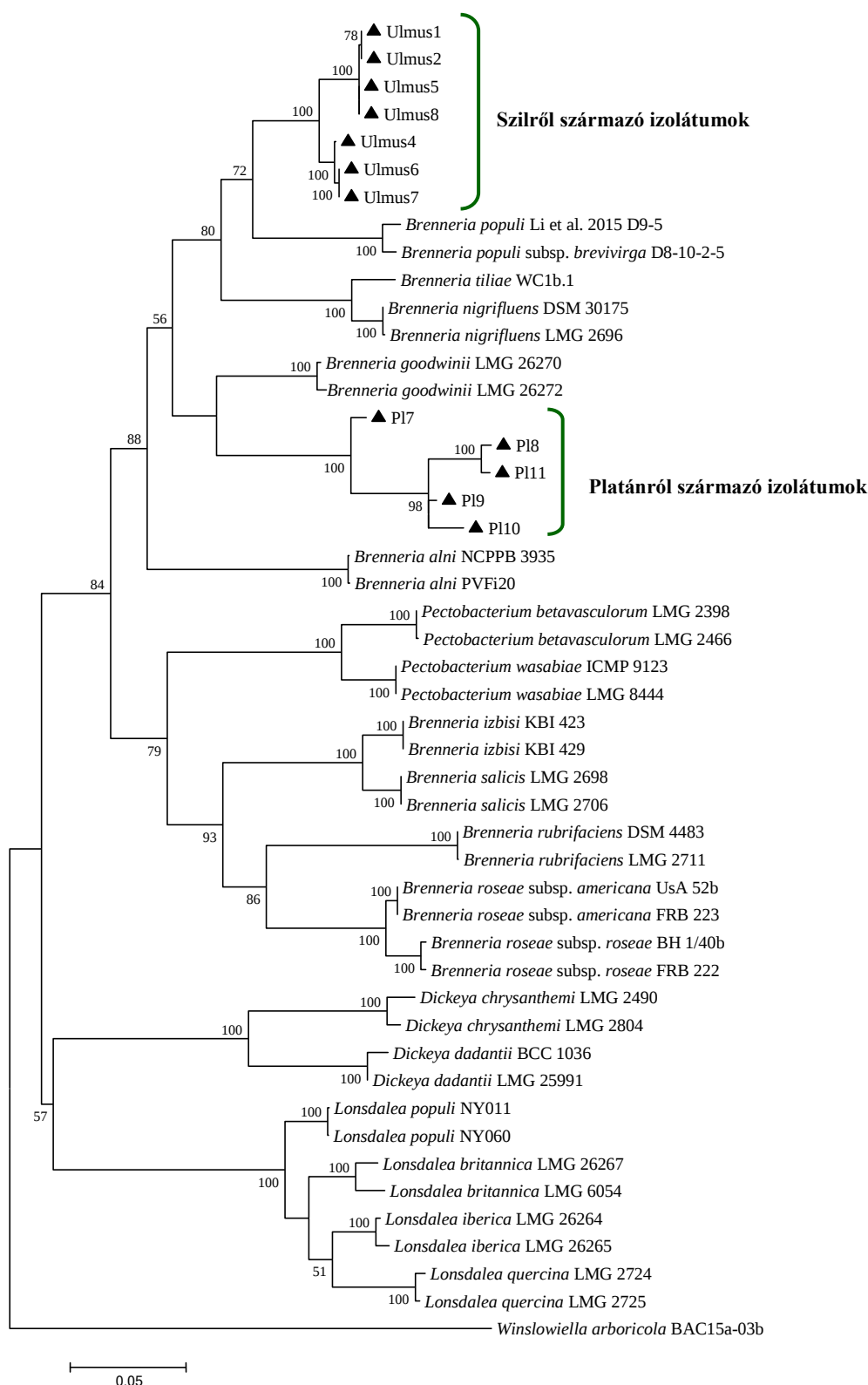
A platánról (Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11) származó izolátumok *gyrB* és *rpoB* gén szekvenciáját feltöltöttük a nemzetközi adatbankba, melyeknek hivatkozási számait a 7. számú mellékletben részleteztük. A többi, saját kóddal ellátott izolátum (Juglans1, Juglans2, Salix1, Pl6, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11, Ulmus1, Ulmus2, Ulmus3, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10, Bet1, Bet2, Bet4, Bet5, Bet6, Bet7, Pop1, Aes1) meghatározott *atpD*, *gyrB*, *infB* és *rpoB* gén szekvenciáinak feltöltése még folyamatban van.

A páronkénti összehasonítás során 12 izolátumunk szekvenciáját vetettük össze az NCBI GenBankból letöltött 15 *Brenneria* törzs szekvenciájával, amelynek eredményét a 6. számú melléklet tartalmazza. A platánról származó izolátumok szekvenciái 83,01–83,83%-ban, míg a szilfáról

gyűjtött izolátumok szekvenciái 86,90–89,05%-ban egyeztek meg a *B. populi* subsp. *brevivirga* D8-10-2-5 törzs szekvenciájával.

A multilókusz szekvencia elemzéshez 12 izolátumunk négyféle háztartási gén szekvenciáit használtuk fel, ezekből külön-külön elkészítettük az illesztéseket, amelyeket ezt követően összekapcsoltunk. A részleges, négy háztartási gén szekvenciáján alapuló filogenetikai törzsfa (29. ábra) öt platánról (Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11) és hét szilfáról (Ulmus1, Ulmus2, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8) gyűjtött izolátumunk rokonsági viszonyait mutatja a *Pectobacteriaceae* család 35 baktériumtörzsének (*Brenneria* spp., *Dickeya* spp., *Lonsdalea* spp., *Pectobacterium* spp.) szekvenciáihoz képest. Outgroupként az MLSA törzsfa készítésekor a *Winslowiella arboricola* BAC15a-03b típustörzset használtam, melyet Nagy-Britanniában *Platanus x hispanica* növényen megfigyelt baktériumnyálkával átitatott lézióból izoláltak. A törzsfát 48 izolátum szekvenciái alkotják.

Az Ulmus1, Ulmus2, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8 azonosítási kódú izolátumok egymáshoz viszonyítva kis mértékben eltérnek, de egy külön ágon, a *Brenneria* típustörzsektől elkülönülve helyezkednek el. Legközelebbi rokonságban a *Brenneria populi* Li et al. 2015 D9-5 és *Brenneria populi* subsp. *brevivirga* D8-10-2-5 típustörzsekkel állnak, melyeket Kínában *Populus x euramericana* rákos sebekből izoláltak. A Pl8, a Pl9, a Pl10 és a Pl11 azonosítási kódú izolátumok szintén kis mértékben különböznek egymástól, és egy különálló csoportba rendeződtek. A Pl7 izolátum a többi, platánról izolált törzs mellett, de elkülönülve helyezkedik el. A hozzájuk legközelebbi rokon faj a *Brenneria goodwinii* LMG 26270 és LMG 26262 izolátumok, amelyeket Nagy-Britanniából, AOD tüneteket mutató tölgyfákról izoláltak.



29. ábra: Maximum likelihood módszerrel készített filogenetikai törzsfá a *Pectobacteriaceae* család 35 baktériumtörzsének (*Brenneria* spp., *Dickeya* spp., *Lonsdalea* spp., *Pectobacterium* spp.), valamint 12 saját izolátumunk részleges *gyrB*, *rpoB*, *atpD* és *infB* gének szekvenciái alapján

Megjegyzések: Outgroup: *Winslowiella arboricola* BAC15a-03b. Az elágazások melletti számok a bootstrap értékeket jelölik, %-ban megadva. Izolátumainkat a ▲ szimbólummal emeltem ki. A skála 0,05 szubsztitúciót jelent nukleotid pozícióként.

5. KÖVETKEZETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Kutatásunkkal hozzájárulunk a hazánkban dión és díszfákon előforduló, kéregbetegséget és nyálkaszivárgást okozó baktériumfajok teljesebb ismeretéhez. Ezt azért is fontosnak tartjuk, mert az általunk vizsgált növényfajok közül a közönséges vadgesztenye már az IUCN vörös listáján a veszélyeztetett kategóriában szerepel, aminek fő oka a *Cameraria ohridella* károsítása és annak következményei (Allen és Khela 2017). Sok a megválaszolatlan kérdés a *Brenneria* és *Lonsdalea* fajokkal, terjedésükkel, környezeti igényeikkel, tűrőképességükkel és fertőzésüknek hosszútávú hatásaival kapcsolatban, melyeknek ismerete szükséges ahhoz, hogy mérlegelni tudjunk, melyik fajok továbbterjedését kell megakadályozni, mert tovább rontják az egyébként is gyengülő kondícióban lévő értékes városi díszfáinkat. Emellett meg kell előzni azt, hogy még több növényfaj kerüljön veszélyeztetett besorolás alá, ezáltal közelítve a kihalás felé.

2012. évtől kezdődően figyeltünk fel diófákon, díszfákon (*Aesculus hippocastanum*, *Betula pendula*, *Morus alba*, *Platanus x acerifolia*, *Populus nigra*, *Salix alba*, *Ulmus* sp.) és egy szilfaerdőben a kéregpedésekre, amelyekből baktériumnyálka szivárgott. A tapasztalt tünetek hasonlóak voltak a szakirodalomban *Brenneria* és *Lonsdalea* fajokra jellemző, különböző növényfajokon okozott szimptomákhoz, mint például a fűzfákat fertőző *Brenneria salicis*, a diófákon sekély és mély kéregbetegséget okozó *B. nigrifluens* és *B. rubrifaciens*, vagy a nyárfákról izolált *Lonsdalea populi* baktériumfajok okozta elváltozásokhoz (Day 1924, Wilson et al. 1957, Hildebrand és Schroth 1967, Wilson et al. 1967, Surico et al. 1996, Denman et al. 2012, Brady et al. 2012, Tóth et al. 2013, Brady et al. 2014a, Li et al. 2015, Li et al. 2019, Kile et al. 2022). A tüneteket mutató fákról izolált baktériumok tenyészbélyei megegyeztek a korábban publikált *Brenneria* fajokról leírtakkal: a kolóniák sima felületűek, épszélűek, kör alakúak, krémszínűek voltak, enyhe kékes árnyalattal. Emellett az izolált baktériumtörzsek Gram tulajdonságukban (negatív) és a hiperszenzitív reakcióban (nem okoztak szöveti nekrozist – kivétel a *B. rubrifaciens*) megegyeztek a szakirodalomban *Brenneria* és *Lonsdalea* fajokkal kapcsolatban publikált eredményekkel (Surico et al. 1996, Saccardi et al. 1998, Brady et al. 2012, Hauben és Swings 2015, Kile et al. 2022).

A patogenitás igazolásához kétféle módszert alkalmaztunk, 37 izolátummal (Juglans1, Salix1, Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11, Ulmus1, Ulmus2, Ulmus3, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10, Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet6, Bet7, Pop1, Morus1, Morus2, Aes1, Aes2, Aes3, Aes4, Aes5) hajtásokat fertőztünk, valamint megsebeztek a törzset, amit 18 izolátum (Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet6, Bet7, Morus1,

Morus2, Aes1, Aes4, Aes5, Pop1, Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5) szuszpenziójával inokuláltunk. Három hónappal később, az értékelés során nem tapasztaltuk baktériumnyálka megjelenését, és rákos sebek sem alakultak ki, mely megegyezik Kile és munkatársai (2022) megfigyeléseivel, akik a *Brenneria tiliae* fajjal hársfa hajtásokat fertőztek. 11 héttel a fertőzést követően csak nekrotikus léziók megjelenését tapasztalták. Egy spanyol kutatásban (egy hónap után) szintén nem tapasztaltak nyálkaszivárgást, és rákos sebek sem alakultak ki, de a fertőzési pontban kalluszosodást figyeltek meg, ami a kontrollnál nem volt látható (Biosca et al. 2006). Továbbá, a *Brenneria izbisi* patogenitásának vizsgálatakor kétéves dió növények törzsét inokulálták. 14 hónap elteltével a kérgen léziók jelentek meg, amelyet eltávolítva barna nekrotikus sávok voltak láthatóak, de nyálkafolyást és rákos sebeket nem figyeltek meg (Gašić et al. 2022). Saccardi és munkatársai (1998) azonban a *Brenneria nigrifluens* fajjal végzett patogenitási teszt során 5 hónappal az inokulációt követően, az inokuláció pontjánál nyálkafolyást, alatta pedig vizenyősséget és feketedést figyeltek meg. Mindezek alapján feltételezhetően hosszabb időre van szükségük a *Brenneria* nemzetség tagjainak – optimális környezeti feltételek mellett – ahhoz, hogy rákos sebek és nyálkafolyás is megjelenjen. Emellett szerepe lehet más tényezőknek is, mint a fertőzéshez felhasznált növények kora. Vélhetően az említett tényezők játszhatnak szerepet abban, hogy az általunk is alkalmazott, Li és munkatársai (2014) által publikált módszer nem teljesen ugyanazt az eredményt mutatta, mint amelyeket tapasztaltunk. Szabadföldi fertőzéseiknél ugyanis a nyárfákon rákos sebeket, valamint a jellegzetes, fehér nyálkafolyást is megfigyeltek.

A két alkalmazott módszer (hajtásfertőzés, sebzés a kérgen) közül a törzs sebzése bizonyult alkalmasabbnak a patogenitás vizsgálatára, mert az izolátumok többségénél tapasztaltunk nektrózt a szövetekben.

A biokémiai tesztek eredményeit a 9. táblázatban összesítettem, kiegészítve a *Brenneria alni* PVfi20, *B. bubanii* 4f2^T, *B. corticis* gBx10-1-2^T, *B. goodwinii* LMG 26270^T, *B. izbisi* KBI 423^T, *B. nigrifluens* DSM 30175^T, *B. populi* Li et al. D9-5^T, *B. salicis* LMG 2698^T és *B. tiliae* WC1b.1^T típustörzsek biokémiai tulajdonságaival. Zöld színnel jelöltem saját izolátumaink eredményeit, kék színnel a típustörzsek eredményeit. Minden izolátumunk biokémiai tulajdonsága megegyezik a típustörzsek jellemzőivel a következő reakciókban: lizin decarboxiláz, indol termelés, gelatináz, szacharóz fermentáció/oxidáció és arabinóz fermentáció/oxidáció.

Az öt vadgesztenyéről gyűjtött izolátum a *B. corticis* típustörzsszel (Aes1: 17 reakció; Aes2-5: 15 reakció) és a *B. nigrifluens* típustörzsszel (Aes1: 17 reakció; Aes2-5: 15 reakció) egyezett meg a legtöbb reakcióban. A nyírfáról származó izolátumok esetén nagyobb a

változatosság a hasonló tulajdonságokkal bíró típustörzseket illetően, de az izolátumok egymáshoz viszonyítva is mutatnak különbségeket. A Bet1 17 reakcióban mutatott egyezést a *B. bubanii*, *B. corticis* és *B. nigrifluens* fajokkal, míg a Bet2 és Bet3 izolátumok ugyanezekkel a fajokkal 16 tulajdonságban. A Bet4 izolátum 16 tulajdonságban adott egyező eredményt a *B. bubanii*, *B. corticis*, *B. nigrifluens*, *B. salicis* és *B. tiliae* típustörzsekkel. A Bet 5 izolátum a *B. corticis* törzsszel pedig 18 reakcióban egyezett meg. A Bet6 és Bet7 izolátumok esetén a *B. corticis*, a *B. nigrifluens* valamint a *B. tiliae* fajokkal 17 tulajdonságban mutatott egyezést. 17 reakcióban adott egyező eredményt a Pop1 izolátum (nyárfáról) a *B. tiliae* törzsszel, valamint 18-ban a szilről származó izolátumok a *B. goodwinii* törzsszel. A Juglans1 izolátum a *B. alni* típustörzsszel 14, a Salix1 izolátumunk pedig a *B. alni*, *B. corticis* és *B. nigrifluens* típustörzsszel 14 tulajdonságban egyezett meg. A Juglans2 19, valamint a platánról származó izolátumok (kivéve Pl6) 17 reakcióban egyeztek meg a *B. corticis* és *B. nigrifluens* fajokkal. A Pl6 izolátum a *B. goodwinii* törzsszel 18 tulajdonságban adott egyező eredményt. A két eperfáról gyűjtött izolátum pedig 14 reakcióban mutatott egyezést a *B. corticis* és *B. goodwinii* típustörzsekkel.

9. táblázat: A díszfákról és dióról származó izolátumaink és a hozzájuk filogenetikai szempontból legközelebbi rokon *Brenneria* fajok biokémiai tulajdonságai

Reakció/ enzim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
β-galaktoszidáz	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	na	-	-	-	-
Arginin dihidroláz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	na	-	+	-	-
Lizin decarboxiláz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	na	-	-	-	-
Ornitin decarboxiláz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	na	-	-	-	-
Citrát hasznosítás	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	na	-	-	-	v
H ₂ S termelés	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	na	-	-	na	-
Ureáz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Triptofán deamináz	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	na	+	-	-	na	-	-	na	-
Indol termelés	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetoin termelés	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	na	-
Gelatináz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	na	-	-	na	-
Glükóz fermentáció/ oxidáció	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannit fermentáció/ oxidáció	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Inozit fermentáció/ oxidáció	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	v	-	-
Szorbit fermentáció/ oxidáció	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-
Ramnóz fermentáció/ oxidáció	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	na	-	+	+	+	+	+	-	v
Szacharóz fermentáció/ oxidáció	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Melibióz fermentáció/ oxidáció	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Amigdalín fermentáció/ oxidáció	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Arabinóz fermentáció/ oxidáció	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Izolátumok: 1: Aes1; 2: Aes2, Aes3, Aes4, Aes5; 3: Bet2, Bet3; 4: Bet4; 5: Bet1; 6: Bet6, Bet7; 7: Bet5; 8: Pop1; 9: Ulmus1, Ulmus2, Ulmus3, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10; 10: Juglans1; 11: Juglans2; 12: Salix1; 13: Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5, Pl6, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11; 14: Pl6; 15: Morus1, Morus2; 16: *Brenneria alni* PVfi20; 17: *B. bubanii* 4f2^T; 18: *B. corticis* gBx10-1-2^T; 19: *B. goodwinii* LMG 26270^T; 20: *B. izbisi* KBI 423^T; 21: *B. nigrifluens* DSM 30175^T; 22: *B. populi* Li et al. D9-5^T; 23: *Brenneria salicis* LMG 2698^T; 24: *B. tiliae* WC1b.1^T
 +: pozitív; -: negatív; na: nincs adat; v: variábilis; Saját izolátumainkat zölddel, a típusörzseket kék színnel emeltem ki.

A zöld diókon végzett vizsgálatok eredményeként megállapítható, hogy minden vizsgált izolátumunk váltott ki tünetet. Annak ellenére, hogy a típustörzsek izolátumai nem fertőzték a terméseket, köztük a *Brenneria salicis* DSM 30166 sem, a saját, fűzfáról gyűjtött izolátumunk (Salix1) viszont az inokulációs pontban feketedést váltott ki. A többi izolátumunk (Juglans1, Pl6, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11, Ulmus1, Ulmus2, Ulmus3, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10, Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet6, Bet7, Pop1, Morus1, Morus2, Aes1) is okozott valamilyen mértékű tünetet – nekrózis, dióbél vizenyősödése, feketedése, vagy elfolyósodása –, amelyek viszont más gazdanövényekről származnak.

A Moretti és Buonauro (2010) által publikált módszer a terméseken kialakuló tünet alapján ugyan alkalmas lehet a *Brenneria nigrifluens* és a dió xantomonászos betegségét okozó kórokozó elkülönítésére, azonban eredményeink alapján megállapítható, hogy ezzel a módszerrel a *Brenneria nigrifluens* a többi *Brenneria* fajtól nem választható egyértelműen külön.

A molekuláris vizsgálatok során azt tapasztaltuk, hogy egyes izolátumok bizonyos génszakaszai (*atpD*, *gyrB*, *infB*, *rpoB*) nem amplifikálódtak többszöri ismétlés után sem, vagy több aspecifikus termék keletkezett. Próbáltuk kiszűrni a probléma lehetséges forrását, de a -20 °C-ról újonnan elővett, átoltott, 24 órás tenyészetből kivont DNS-sel, a PCR összetevőinek kicserélésével, illetve másik PCR készülék használatával sem történt változás. Ez az oka annak, hogy néhány izolátum esetén nem áll rendelkezésre minden háztartási génre szekvencia. A probléma, hogy egyes baktériumtörzseknél nem keletkezik a kívánt hosszúságú PCR termék, nem egyedi. Brady és munkatársai (2008, 2014a), valamint Kile és munkatársai (2022) is beszámoltak arról, hogy néhány törzsnél más, alacsonyabb (46 °C és 50 °C az 55 °C helyett) primerkötődési hőmérsékletet állítottak be, hogy javítsák háztartási génszakaszok felszaporítását. Egy másik vizsgálatban viszont az anellálási hőmérséklet emelésével kaptak jó eredményt (Erjavec 2019). White (1993) kiemeli, hogy a PCR során a primerek kötődési hőmérséklete egy kritikus pont, ahol a kötődési hőmérséklet határozza meg a primerkötődés specificitását. Mindezekből valószínűsíthető, hogy más primerkötődési hőmérséklet beállításokkal, vagy egyes PCR összetevők (MgCl₂, primerek, templát, stb.) koncentrációjának módosításával, optimalizálásával elérhető lenne izolátumaink hiányzó génszakaszainak felszaporítása.

A részleges 16S rRNS gén szekvenciáin alapuló filogenetikai törzsfa és a biokémiai tesztek eredményei alapján a dióról (Juglans1, Juglans2), a platánról (Pl1, Pl2, Pl3, Pl4, Pl5, Pl6, Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11) és a vadgesztenyéről (Aes1, Aes2, Aes3, Aes4, Aes5) származó izolátumok a nyárfáról izolált *B. corticis*, valamint a közönséges dióról izolált *B. nigrifluens* álltak legközelebbi rokonsági kapcsolatban. A négy háztartási gén összekapcsolt szekvenciái alapján készített törzsfán azonban a hozzájuk legközelebbi rokon faj a *B. goodwinii* (LMG 26270^T és LMG 26262) volt,

amelyet AOD tüneteket mutató tölgyfákról izoláltak. Az MLSA páronkénti összehasonlítás eredménye viszont a *B. populi* subsp. *brevivirga* (83,01–83,83%) fajjal mutatta a legtöbb egyezést.

Emellett a nyírfáról gyűjtött izolátumok (Bet1, Bet2, Bet3, Bet4, Bet5, Bet7) a törzsfán a *B. corticis* és *B. nigrifluens* fajok melletti ágon helyezkedtek el, amelyekhez biokémiai tulajdonságaik alapján is közel álló rokon fajok. Egy ágon csoportosult a Pop1, fekete nyárfáról gyűjtött izolátumunk és a *B. populi* Hauben et al. 1998 baktériumfaj (nyárfa) törzseivel, amelyek 16S rRNS szekvenciája a páronkénti összehasonlítás eredménye szerint 91,32–96,60%-ban egyezett izolátumunk szekvenciájával. Azonban ettől eltérően a biokémiai tulajdonságok a *B. tiliae* fajjal mutattak több egyezést. A Salix1 azonosítási kódú izolátum (fűz) egy ágon helyezkedett el a *B. salicis* LMG 2698 típustörzsszel, amely Nagy-Britanniából, fűzfáról származik. A páronkénti összehasonlítás és biokémiai tulajdonságok viszont eltérést mutattak, előbbi esetén a *B. populi* Hauben et al. 1998 YMAPO5 törzsszel 97,26%-ban volt egyező a két szekvencia, valamint a legtöbb tulajdonságban Salix1 izolátumunk a *B. corticis*, *B. nigrifluens* fajokkal egyezett. Külön ágon volt található a két eperfa izolátumunk (Morus1, Morus2), melyekhez a két közönséges dióról gyűjtött *B. izbisi* izolátum (KBI 423^T, KBI 429), a fűzfáról származó *B. salicis* típustörzs (LMG 2698), és a nyárfáról azonosított *B. populi* Hauben et al. 1998 izolátumok (NCPPB 4299, YMAPO5) voltak legközelebbi rokonságban. Emellett a páronkénti összehasonlítás eredménye alapján a *B. populi* Hauben et al. 1998 YMAPO5 törzsszel 92,75–92,97%-ban egyeztek meg, viszont a biokémiai tulajdonságok más fajokkal mutattak nagyobb mértékű egyezést (*B. corticis*, *B. goodwinii*).

Az Ulmus1, Ulmus2, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8, Ulmus9, Ulmus10 izolátumok a szinte teljes mértékben megegyeztek egymással, és külön ágon, egy csoportban voltak. Hozzájuk a 16S rRNS gén alapján a legközelebb álló rokon fajok a hazánkban azonosított *B. bubanii* (4f2, Kf) és a *B. goodwinii* fajok (LMG 26270, LMG 26272, Mf3-1, J1-1, Sz2) voltak, utóbbiak az akut tölgypusztulás (AOD) kialakulásában szerepet játszó baktériumok, amelyeket Nagy-Britanniában izoláltak. A multilokus szekvencia analízis alapján a *B. populi* Li et al. 2015 és *B. populi* subsp. *brevivirga* voltak a legközelebbi rokon fajok, valamint az MLSA páronkénti összehasonlítás eredménye szintén a *B. populi* subsp. *brevivirga* (86,90–89,05%) fajjal mutatta a legtöbb egyezést. A biokémiai tulajdonságok azonban a *B. goodwinii* faj eredményeivel egyeztek a legtöbb reakcióban.

A 16S rRNS gén szekvenciáin alapuló filogenetikai törzsfá több ponton is eltért az MLSA törzsfától: a típustörzsek is máshol helyezkedtek el, illetve a platánról (Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11) és szilfákról (Ulmus1, Ulmus2, Ulmus4, Ulmus5, Ulmus6, Ulmus7, Ulmus8) izolált törzseink is

(28. és 29. ábra). Ezek az eredmények nem számítanak egyedinek, ugyanis más kutatásban is arra jutottak, hogy az *Enterobacterales* renden belül a 16S rRNS nemzetség-szintű meghatározásra igen, de faj-szintű azonosításra nem ad megbízható eredményt (Naum et al. 2008, Maddock et al. 2022b). Ez alapján a 16S rRNS filogenetikai törzsfá azt mutatja, hogy izolátumaink a *Pectobacteriaceae* családon belül a *Brenneria* nemzetséghez tartoznak. Emellett feltételezhető, hogy a fűzről izolált Salix1 törzs *Brenneria salicis*. Továbbá, a Pop1 nyárfáról gyűjtött izolátum vélhetően a *B. populi* Hauben et al. 1998 fajhoz tartozhat, melyet szintén nyárfán azonosítottak, biokémiai tulajdonságai azonban nem állnak rendelkezésre ennek megerősítésére.

A 16S rRNS gén és az MLSA törzsfá abban megegyezett, hogy a szilről és platánról származó izolátumok szekvenciái külön ágon helyezkedtek el, feltehetően új *Brenneria* fajok lehetnek – de ennek megerősítéséhez további vizsgálatok elvégzése szükséges. Emellett a Pl7, a Pl8, a Pl9, a Pl10 és a Pl11 platánról izolált törzsek némileg különböztek egymástól (28. és 29. ábra). Hasonló tapasztalatokat közöltek kutatásukban Brady és munkatársai (2012), akik kismértékű genetikai variabilitást figyeltek meg az Egyesült Királyságban, tölgyfákról gyűjtött *Lonsdalea britannica* izolátumoknál is – 16S rRNS és négy háztartási gén (*atpD*, *gyrB*, *infB*, *rpoB*) vizsgálati eredményei alapján –, amely feltételezésük szerint azok különböző gyűjtési helyeire vezethető vissza. Emellett Kile és munkatársai (2022) a *Brenneria tiliae* faj esetén is hasonló következtetésre jutottak. Ez magyarázatot adhat az ugyanazon gazdanövényről származó, de a filogenetikai törzsfán különbséget mutató izolátumaink (Pl7, Pl8, Pl9, Pl10, Pl11) esetén is.

Javaslatok a kutatás folytatásához:

- további molekuláris vizsgálatok elvégzése: PCR optimalizálása (PCR elegyben magnézium, primer és DNS koncentráció módosítása, másik DNS kivonási módszer, Gradiens PCR), hogy a hiányzó 16S rRNS és háztartási gének szekvenciáival is ki lehessen egészíteni a filogenetikai törzsfákat,
- Multiplex PCR, egy izolátum több génszakaszának egy időben történő felszaporításához – a költségek és vizsgálati idő csökkentése céljából,
- zsírsavanalízis és DNS-DNS hibridizáció elvégzése az izolátumokkal,
- további biokémiai tesztek (API 20NE, API 50CHB/E, Biolog GN2 Microplate) elvégzése,
- elektronmikroszkópos felvételek készítése (baktériumsejtek morfológiai bélyegeinek megállapításához),

- további tünetes növényfajok és a hazai tölgyfák felmérése (akut tölgy leromlás),
- esetleges vektorok felderítése,
- az Egyesült Királyságban folyó kutatások mintájára a hazai rizoszféra mikrobiom vizsgálata, az egészséges és a tüneteket mutató növényfajok gyökérzónájában előforduló baktériumfajok összehasonlítása,
- a baktériumfajok kölcsönhatásának vizsgálata Brady és munkatársainak (2022a) kutatása alapján.

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

A különböző díszfa fajokon kéregbetegséget okozó *Brenneria* fajok felderítése és jellemzése egy olyan tudományterület, mely kevésbé feltárt, így dolgozatomban számos új információ leírására került sor, amelyek közül a következőket szeretném kiemelni:

1. Magyarországon elsőként jellemeztünk 39 *Brenneria* – két dióról, egy fűzfáról, 11 platánról, 10 szilfáról, hét nyírfáról, egy nyárfáról, két eperfáról és öt vadgesztenyéről gyűjtött – izolátumot klasszikus (morfológiai-, Gram-, biokémiai tulajdonságok, hiperszenzitív reakció indukáló képesség, patogenitási teszt) és molekuláris módszerek (16S rRNS, négy háztartási gén) alapján, melyekkel a nemzetközi adatokhoz is hozzájárultunk.
2. Megállapítottuk, hogy a *Platanus x acerifolia* (Pl7–Pl11) és az *Ulmus* sp. (Ulmus1, Ulmus2, Ulmus4–8) növényfajokról származó izolátumaink feltehetően két új, *Brenneria* nemzetségbe tartozó faj tagjai lehetnek. Emellett a világon elsőként közöltünk szekvencia adatokat a platán és a szil gazdanövényekről izolált baktériumfajok háztartási géneiről (*atpD*, *gyrB*, *infB*, *rpoB*) és elemeztük azokat multilókusz szekvencia analízissel.
3. Kimutattuk, hogy az elvégzett vizsgálatok alapján egy dióról (Juglans1), a tizenegy platánról (Pl1–Pl11) és az öt vadgesztenyéről (Aes1–Aes5) származó izolátumunk egy fajhoz tartozhat, amely polifág, vagy ugyanazon fajhoz tartozó különböző alfajok lehetnek.
4. *Betula pendula* és *Morus alba* díszfákról gyűjtött izolátumaink (Bet1–Bet5, Bet7, Morus1, Morus2) esetén megállapítottuk, hogy biokémiai tulajdonságaik és részleges 16S rRNS gén szekvenciáik alapján elkülönülnek az ismert *Brenneria* fajoktól, feltehetően új tagjai lehetnek a nemzetségnek.
5. Megállapítottuk, hogy a *Populus nigra* növényfajról izolált kórokozó (Pop1 izolátum), a *Brenneria populi* Hauben et al. 1998 baktériumfajhoz tartozik és elsőként közöltünk szekvencia adatot a baktériumfaj részleges 16S rRNS génszakaszáról és biokémiai tulajdonságairól.
6. Eddigi vizsgálataink alapján kimutattuk, hogy a Juglans2, dióról és a Pl6, platánról gyűjtött izolátumok a *Brenneria nigrifluens* baktériumfajhoz tartoznak, valamint a platánról gyűjtött izolátum új gazdanövénye a kórokozónak a részleges 16S rRNS gén elemzése alapján.
7. A világon elsőként írtunk le *Brenneria* fajt *Aesculus hippocastanum* gazdanövényről és közöltük az izolátumok jellemző tulajdonságait, részleges 16S rRNS gén szekvencia adatait – amelyek alapján elkülönülnek az ismert *Brenneria* fajoktól; a legközelebbi rokon fajok a *B. corticis*, *B. nigrifluens* és a *B. tiliae*.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

2012 és 2019 között dió-, eper-, fűz-, nyár-, nyír-, platán-, szil- és vadgesztenyefákról gyűjtöttünk kéreg- és baktériumnyálka mintákat, azzal a céllal, hogy a tüneteket okozó patogéneket hagyományos és molekuláris vizsgálati módszerekkel azonosítsuk. Munkánk során összesen 39 izolátumot gyűjtöttünk 13 helyszínen nyolc gazdanövényről (közönséges dió, fehér eperfa, fehér fűz, fekete nyár, közönséges nyírfa, juharlevelű platán, szil és közönséges vadgesztenye). Izolátumainkkal ötféle klasszikus vizsgálatot (Gram tulajdonság meghatározása, HR, biokémiai teszt, kétféle patogenitási teszt, zöld dió teszt) végeztünk, ami összesen 193 vizsgálatot takar. A molekuláris vizsgálatok során 37 izolátum 16S rRNS szekvenciáját határoztuk meg. Továbbá, 18 izolátum *atpD*, 23 izolátum *gyrB*, 18 izolátum *infB* és 23 izolátum *rpoB* szekvenciáit határoztuk meg.

Izolátumaink tenyészbélyegei túlnyomó többségben megegyeztek, minden izolátum Gram negatív volt, és dohány növény levelein nem váltottak ki hiperszenzitív reakciót. A biokémiai tulajdonságok megállapításához API 20E tesztet alkalmaztunk. Izolátumaink biokémiai tulajdonságai a következő reakciókban megegyeztek: arginin dihidroláz, lizin decarboxiláz, ornitin decarboxiláz, indol termelés, gelatináz, szacharóz fermentáció/oxidáció és arabinóz fermentáció/oxidáció. Kétféle módszerrel igazoltuk patogenitásukat: egy- és kétéves *Aesculus hippocastanum*, *Betula pendula*, *Juglans regia*, *Morus alba*, *Platanus x acerifolia*, *Populus nigra*, *Populus x euramericana*, *Salix alba* és *Ulmus pumila* facsemeték hajtásait fertőztünk, valamint sebzést ejtettünk a törzsön, ahol baktérium szuszpenzióval inokuláltuk a csemetéket. A hajtásfertőzés esetén a dióról, a fűzfáról, a szilfáról és platánról gyűjtött izolátumoknál az inokuláció helyéhez közeli leveleken hervadást, barnulást és száradást tapasztaltunk. Azonban a többi izolátum esetén (eperfa, nyírfa, nyárfa, vadgesztenye) a betegségre jellemző repedések a kérge, valamint váladékfolyás nem jelent meg három hónap után sem. A törzs sebzésnél a vágások az esetek többségében beforrtak, nekrozis a törzs félbevágásával vált láthatóvá, ami a fertőzési pont körül alakult ki. Baktériumnyálka a fertőzést követő három hónappal sem jelent meg. Mindemellett igazoltuk a zöld diótermés alkalmasságát a *Brenneria nigrifluens* gyors azonosítására. Az inokulálást követően, hét nap elteltével minden izolátumunk produkált tünetet – nekrozis, a dióbél vizenyősödése, feketedése, vagy elfolyósodása – a terméseken.

Elemeztük az izolátumok 16S rRNS és négy háztartási gén (*atpD*, *gyrB*, *infB*, *rpoB*) szekvenciáit. A 16S rRNS gén szekvenciákból készített filogenetikai törzsfán az egyik dióról gyűjtött izolátum, valamint a platánról és vadgesztenyéről származó izolátumok egy külön ágon helyezkedtek el. Ezekhez az izolátumokhoz a nyárfáról származó *B. corticis* gBX10-1-2, a

hársfáról izolált *Brenneria tiliae* WC1b.1 típus törzs és EX1a törzs, valamint a közönséges dióról izolált *B. nigrifluens* DSM 30175, OR1 és BNK1 izolátumok álltak legközelebbi rokonságban. Emellett az egyik dióról és egy platánfáról származó izolátum egy ágon helyezkedett el a *B. nigrifluens* törzsekkel. A nyírfáról gyűjtött izolátumokhoz legközelebbi rokon fajok a fentebb említett *B. corticis*, *B. tiliae* és *B. nigrifluens* törzsei, illetve a *B. alni* és *B. populi* Li et al. 2015 törzsei. Mellettük egy ágon csoportosult a fekete nyárfáról izolált törzs és a *B. populi* Hauben et al. 1998 NCPPB 4299, spanyolországi, nyárfáról származó típus törzs, valamint az iráni YMAPO5 törzs. A fűzfáról izolált törzs egy ágon helyezkedett el a *B. salicis* LMG 2698 típus törzsszel, amely fűzfáról származott. A mellettük elhelyezkedő külön ágon volt található a két eperfa izolátumunk, melyekhez a két szerbiai, közönséges dióról gyűjtött *B. izbisi* izolátum (KBI 423^T, KBI 429) helyezkedett el. A szilről származó izolátumok külön ágon, egy csoportban voltak. Hozzájuk legközelebb álló rokon fajok a hazánkban azonosított *B. bubanii* (4f2, Kf) és a *B. goodwinii* fajok (LMG 26270, LMG 26272, Mf3-1, J1-1, Sz2), mely utóbbiak az akut tölgypusztulás (AOD) kialakulásában szerepet játszó baktériumok.

Az MLSA filogenetikai törzsfája alapján a szil izolátumok egy külön ágon helyezkedtek el, legközelebbi rokonságban a *Brenneria populi* Li et al. 2015 és *Brenneria populi* subsp. *brevivirga* típus törzsekkel álltak, melyeket *Populus x euramericana* rákos sebekből izoláltak. A négy platánról származó izolátum szintén egy különálló csoportba rendeződött, a hozzájuk legközelebbi rokon faj a *Brenneria goodwinii* különböző törzsei, amelyeket AOD tüneteket mutató tölgyfákról izoláltak.

A dióról, eperfáról, fűzfáról, nyárfáról, nyírfáról, platánról, szilről és vadgesztenyéről származó izolátumokkal elvégzett vizsgálatok eredményei alapján izolátumaink a *Brenneria* nemzetséghez tartoztak. A biokémiai tulajdonságaik különbözősége, valamint a 16S rRNS és a négy háztartási gén alapján készített filogenetikai törzsfák alapján a platán és szil fajokról gyűjtött izolátumok új, eddig nem publikált *Brenneria* fajok lehetnek. De a pontos fajmeghatározáshoz további vizsgálatok (pl. zsírsavanalízis, DNS-DNS hibridizáció) elvégzése szükséges.

Fontosnak tartjuk a kórokozók rendszertani hovatartozásának pontosítását, terjedésüknek, környezeti igényeiknek mind teljesebb megismerését, mert ez szükséges ahhoz, hogy számba vegyük a lehetőségeket, és kidolgozzuk az ellenük való védekezés módszereit. A károsítók közül az egyik legnagyobb problémát a baktériumok okozzák, mert kevés védekezési lehetőség van ellenük a szakemberek kezében – főként a közterületek növényvédelménél. Emellett a fertőzés következtében a fák díszítőértéke is csökken, a törzsön megjelenő, szivárgó baktériumnyálka kellemetlen szagú, valamint akár a 40–50 éves, értékes fák teljes pusztulásában is szerepük lehet.

Az Európai zöld megállapodás (European Green Deal) „termelőtől az asztalig” stratégiájának egyik pontjában kiemelik a fenntartható élelmiszer-termelés biztosítását, melynek lényeges eleme a növényvédő szerek és műtrágyák használatának csökkentése. A megállapodás végső célja Európa klímasemlegessé és fenntarthatóvá válása. Ahhoz, hogy ennek eleget tegyünk, és ezzel párhuzamosan növényeinket is megvédjük a baktériumfajok okozta károsításoktól, szükséges megtalálni az áthidaló megoldásokat. Így kiemelt fontossága van például a prevenciónak, a metszési munkálatok során a sebkezelésnek és fertőtlenítésnek. Az elmúlt években világviszonylatban is számos új baktériumfajt publikáltak a kéregbetegséget és váladékszivárgást mutató fafajokkal kapcsolatban, ebből kifolyólag a jövőben is várható további kórokozók megjelenése ezeken a növényeken. A városi környezetben élő fák nélkülözhetetlen tagjai környezetünknek, ezért fontos lenne lépéseket tenni, hogy megvédhessük őket, és ezzel párhuzamosan gondoskodjunk saját – és családunk – jövőjéről.

8. SUMMARY

Between 2012 and 2019, bark and exudate samples were collected from Persian walnut, white mulberry, white willow, black poplar, silver birch, London plane, elm and horse chestnut trees to identify the pathogens causing the symptoms using traditional and molecular methods. A total of 39 isolates were collected from 8 host plants at 13 locations. Five classical methods (Gram test, biochemical test, HR, two methods for testing pathogenicity, and green walnut test) were performed on our isolates in a total of 193 tests. Molecular tests were conducted to determine the 16S RNA gene sequence of 37 isolates. Furthermore, the sequences of 18 isolates of the *atpD* gene, 23 isolates of the *gyrB*, 18 isolates of the *infB* and 23 isolates of the *rpoB* were determined.

The morphological characteristics of our isolates were mostly identical; all of them were Gram-negative, and no hypersensitive response was induced on tobacco plants. API 20E test was used to determine the biochemical properties. The biochemical characteristics of our isolates were consistent in the following reactions: arginine dihydrolase, lysine decarboxylase, indole production, gelatinase and arabinose fermentation/oxidation. Pathogenicity was verified using two methods: infecting shoots of one- and two-year-old seedlings of *Aesculus hippocastanum*, *Betula pendula*, *Juglans regia*, *Morus alba*, *Platanus x acerifolia*, *Populus nigra*, *Populus x euramericana*, *Salix alba* and *Ulmus pumila*, and wounding the stem where saplings were inoculated with bacterial suspension. In the case of shoot infection, wilting, browning and drying were observed on leaves close to the inoculation site in isolates collected from Persian walnut, white willow, elm and London plane. However, in the other isolates (white mulberry, silver birch, black poplar, horse chestnut), characteristic symptoms of the disease, such as cracks on the bark and bacterial oozing, did not appear after three months. In most cases, wounding the stem revealed healed wounds, with necrosis evident upon cutting the stem in half, forming around the infection point. Bacterial oozing did not appear for three months after infection. Nevertheless, we demonstrated the suitability of green walnut fruits for rapid identification of *Brenneria nigrifluens*. After inoculation, all our isolates produced symptoms - necrosis, blackening of the walnuts and brown, watery exudate oozing – on the fruits after seven days.

The sequences of the isolates 16S rRNA and four housekeeping genes (*atpD*, *gyrB*, *infB*, *rpoB*) were analysed. A phylogenetic tree was constructed based on 16S rRNA gene sequences on which one of the isolates collected from Persian walnut and the isolates from London plane and horse chestnut trees formed a separate branch. The closest phylogenetic relatives to these

isolates were the type strain of *B. corticis* gBX10-1-2 isolated from poplar, the type strain of *Brenneria tiliae* WC1b.1 and strain EX1a isolated from linden tree and the strains of *B. nigrifluens* DSM 30175, OR1 and BNK1 isolated from Persian walnut. In addition, one isolate from Persian walnut and one from London plane were on the same branch with *B. nigrifluens* strains. The closest phylogenetic relative of the isolates collected from silver birch trees are the above mentioned strains of *B. corticis*, *B. tiliae*, *B. nigrifluens*, *B. alni*, and *B. populi* Li et al. 2015. Next to them, a strain isolated from black poplar and strains *B. populi* Hauben et al. 1998 NCPPB 4299 isolated from poplar in Spain and Iranian strain YMAPO5 were grouped on the same branch. The isolate collected from white willow was located on a branch with the strain *B. salicis* LMG 2698, which originates from willow. Our two white mulberry isolates were located on a separate branch close to the two *B. izbisi* isolates (KBI 423^T, KBI 429) collected from European walnut. The isolates from elm were grouped separately, situated on a distinct branch within the same group. The closest phylogenetic species were *B. bubanii* (4f2, Kf) identified in Hungary, and *B. goodwinii* (LMG 26270, LMG 26272, Mf3-1, J1-1, Sz2), associated with the development of acute oak decline (AOD).

Based on the MLSA phylogenetic tree, the elm isolates were on a separate branch and were closely related to *Brenneria populi* Li et al. 2015 and *Brenneria populi* subsp. *brevivirga* type strains, which were isolated from cankers of *Populus x euramericana*. The isolates from London plane trees formed a separate group as well. The closest related species to them were strains of *Brenneria goodwinii*, which were isolated from oak trees showing AOD symptoms.

The results of the tests on isolates from Persian walnut, white mulberry, white willow, black poplar, silver birch, London plane, elm and horse chestnut showed that our isolates belonged to the genus *Brenneria*. Based on the differences in their biochemical characteristics, the phylogenetic trees based on 16S rRNA and four housekeeping genes, isolates collected from London plane and elm tree species refer to novel *Brenneria* species. However, further tests (fatty acid analysis, DNA-DNA hybridisation) are required for accurate species identification.

We consider it essential to clarify the taxonomic position of pathogens, comprehensively understand their distribution and environmental requirements. This knowledge is crucial for the development of effective plant protection methods against them. Bacteria are one of the biggest concerns among pests because there are a few control options available to professionals, especially in the plant protection of public areas. They also reduce the ornamental value of the trees, cause an unpleasant odour from the substance that oozes on the trunk and can even cause the complete death of valuable trees 40 to 50 years old. The European Green Deal's „farm to fork” strategy emphasises the need to ensure sustainable food production, with a reduction in the

use of pesticides and artificial fertilisers as an essential element. The ultimate goal of the deal is to make Europe climate-neutral and sustainable. We need to find bridging solutions to achieve this while protecting our plants from damage caused by bacterial species. For example, prevention, wound treatment and disinfection during pruning have particular importance. Several new bacterial species have been published in the last years worldwide about bark diseases and exudate oozing. Consequently, in the future more pathogens are expected to appear on these plants. Urban trees play a crucial role in our environment, and it is necessary to implement measures to protect them, and, at the same time take care of our own – and our family's – future.

9. MELLÉKLETEK

1. SZÁMÚ MELLÉKLET: IRODALOMJEGYZÉK

1. Abelleira, A., Moura, L., Aguín, O., Salinero, C. (2019): First Report of *Lonsdalea populi* Causing Bark Canker Disease on Poplar in Portugal. *Plant Disease*, **103** (8), e-ISSN: 1943-7692.
2. Adegeye, A. O., Preece, T. F. (1978): *Erwinia salicis* in Cricket Bat Willows: Rate of Movement of the Production of Symptoms in Young Trees and Shoots. *Journal of Applied Bacteriology*, **44** (2): 265-277.
3. Adeolu, M., Alnajjar, S., Naushad, S., Gupta, R. S. (2016): Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for *Enterobacterales* ord. nov. divided into the families *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae* fam. nov., *Pectobacteriaceae* fam. nov., *Yersiniaceae* fam. nov., *Hafniaceae* fam. nov., *Morganellaceae* fam. nov., and *Budviciaceae* fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **66**: 5575-5599.
4. Allahverdipour, T., Shahryari, F., Charkhabi, N. F. (2020): First report of walnut bark canker caused by *Gibbsiella quercinecans* and *Brenneria roseae* subsp. *roseae* in Iran. *New Disease Reports*, **41**: 12.
5. Allahverdipour, T., Shahryari, F., Charkhabi, N. F. (2021): *Gibbsiella quercinecans* and *Brenneria roseae* subsp. *roseae* associated to the canker disease of walnut trees in northwestern Iran. *European Journal of Plant Pathology*, **161**: 783-797.
6. Allen, D. J. Khela, S. (2017): *Aesculus hippocastannum* (errata version published in 2018). In *The IUCN Red list of Threatened Species; IUCN Global Species Programme Red List Unit: Cambridge, UK, 2017*, online:
7. <https://www.iucnredlist.org/species/202914/122961065> (accessed on 21 May 2022)
8. Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., Lipman, D. J. (1990): Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, **215** (3): 403-410.
9. Amirsardari, V., Sepahwand, S., Madani, M. (2017): Identification of deep bark canker agent of walnut and study of its phenotypic, pathogenic, holotypic and genetic diversity in Iran. *Journal of Plant Interactions*, **12** (1): 340-347.
10. Bakhshi ganje, M., Shams-Bakhsh, Mackay, J., Rahimian, H. (2020): Identification and characterization of bacterial strains associated with diseased oak trees in Northern Iran. *Forest Pathology*, **50** (1): e12571.
11. Bakhshi ganje, M., Mackay, J., Nicolaisen, M., Shams-Bakhsh, M. (2021): Comparative Genomics, Pangenome, and Phylogenetic Analyses of *Brenneria* spp., and Delineation of *Brenneria izadpanahii* sp. nov. *Phytopathology*, **111** (1): 78-95.
12. Bartha, D., Ormos, B., Bús, M. (2008): A törékeny fűz (*Salix fragilis* L.). *Erdészeti Lapok*, **CXLIV** (6): 1-8.
13. Bartha, D. (2016a): A mezei szil kétszáz évvel ezelőtti tananyagban. *Erdészeti Lapok*, **CLI** (1): 19-20.
14. Bartha, D. (2016b): A mezei szil (*Ulmus minor*) botanikai jellemzése. *Erdészeti Lapok*, **CLI** (2): 56-58.
15. Bartholy, J., Dezső, Zs., Gelybó, Gy., Kern, A., Pongrácz, R., Radics, K. (2013): Alkalmazott és városklimatológia. ELTE TTK FFI Meteorológiai Tanszék, Budapest.
16. Basavand, E., Khogaygan, P., Gheraldini, L., Rahimian, H. (2019): Isolation and identification of *Rahnella victoriana* associated with bacterial canker of *Eucalyptus* in Iran. *Forest Pathology*, **52** (3): e12743.

17. Basavand, E., Khogaygan, P., Dehghan-Niri, M., Firouzianbandpey, S. (2021a): Bacterial watermark disease on *Salix alba* caused by *Brenneria salicis* in Iran. *Journal of Plant Protection Research*, **61** (2): 195-199.
18. Basavand, E., Khogaygan, P., Rahimian, H., Doonan, J. M., Pakdin-Parizi, A. (2021b): First report of bacterial canker of fig trees caused by *Brenneria nigrifluens*. *Journal of Phytopathology*, **169**: 429-437.
19. Basavand, E., Khogaygan, P., Doonan, J. M., Rahimian, H. (2021c): *Gibbsiella quercinecans* as new pathogen involved in bacterial canker of Russian olive. *3 Biotech*, **11**: 1-8.
20. Benedikz, T., Ferrini, F., Garcia-Valdecantos, J. L., Tello, M. L. (2005): Plant Quality and Establishment. In: Konijnendijk, C. C., Nilsson, K., Randrup, T. B., Schipperijn, J. (szerzők): *Urban Forests and Trees*. Springer, 231-256.
21. Berruete, I. M., Cambra, M. A., Collados, R., Monterde, A., López, M. M., Cubero, J., Palacio-Bielsa, A. (2016): First Report of Bark Canker Disease of Poplar Caused by *Lonsdalea quercina* subsp. *populi* in Spain. *Plant Disease*, **100** (10), e-ISSN: 1943-7692.
22. Bian, D-R., Xue, H., Wang, G-M., Piao, Ch-g., Li, Y. (2021): *Affinibrenneria salicis* gen. nov. sp. nov. isolated from *Salix matsudana* bark canker. *Archives of Microbiology*, **203** (6): 3473-3481.
23. Biosca, E. G., González, R., López-López, M. J., Soria, S., Montón, C., Pérez-Laorga, E., López, M. M. (2003): Isolation and Characterization of *Brenneria quercina*, Causal Agent for Bark Canker and Drippy Nut of *Quercus* sp. in Spain. *Bacteriology*, **93** (4): 485-492.
24. Biosca, E. G., Martín, S., Zuriaga, P., Montón, C., López-Ocaña, L., López, M. M. (2006): Characterization of *Brenneria* sp. from poplar cankers in Spain. In Mendez-Vilas, A. (szerző) *Modern Multidisciplinary Applied Microbiology: Exploiting Microbes and Their Interactions*, 385-389.
25. Biosca, E. G., Pérez-Laorga Arias, E., Águila Clarés, B., Catalá-Senent, J. F., Delgado Santander, R., González Abolfio, R., López González, M. M. (2008): Distribución de *Brenneria* spp. en la Comunidad Valenciana y especies forestales a las que afecta. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales*, **26**: 113-118.
26. Biosca, E. G., López, M. M. (2012): Detection and identification methods and new tests as developed and used in the framework of COST873 for bacteria pathogenic to stone fruits and nuts. *Journal of Plant Pathology*, **94**: 105-113.
27. Boyd, I. L., Freer-Smith, P. H., Gilligan, C. A., Godfray, H. C. J. (2013): The Consequence of Tree Pests and Diseases for Ecosystem Services. *Science*, **342** (6160): DOI: 10.1126/science.1235773
28. Böll, S., Schönfeld, P., Körber, K., Herrmann, J. V. (2014): Stadtbäume unter Stress. *LWF aktuell*, **98**: 4-8.
29. Brady, C., Arnold, D., McDonald, J., Denman, S. (2017): Taxonomy and identification of bacteria associated with acute oak decline. *World Journal*, **33** (142):1-11.
30. Brady, C. L., Cleenwerck, I., Denman, S., Venter, S. N., Rodríguez-Palenzuela, P., Coutinho, T. A., De Vos, P. (2012): Proposal to reclassify *Brenneria quercina* (Hildebrand and Schroth 1967) Hauben et al. 1999 into a new genus, *Lonsdalea* gen. nov., as *Lonsdalea quercina* comb. nov., descriptions of *Lonsdalea quercina* subsp. *quercina* comb. nov., *Lonsdalea quercina* subsp. *iberica* subsp. nov. and *Lonsdalea quercina* subsp. *britannica* subsp. nov., emendation of the description of the genus *Brenneria*, reclassification of *Dickeya dieffenbachiae* as *Dickeya dadantii* subsp. *dieffenbachiae* comb. nov., and emendation of the description of *Dickeya dadantii*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **62**: 1592-1602.
31. Brady, C., Cleenwerck, I., Venter, S., Vancanneyt, M., Swings, J., Coutinho, T. (2008): Phylogeny and identification of *Pantoea* species associated with plants, humans and the

- natural environment based on multilocus sequence analysis (MLSA). *Systematic and Applied Microbiology*, **31**: 447-460.
32. Brady, C., Denman, S., Kirk, S., Venter, S., Rodríguez-Palenzuela, P., Coutinho, T. (2010): Description of *Gibbsiella quercinecans* gen. nov., sp. nov., associated with Acute Oak Decline. *Systematic and Applied Microbiology*, **33**: 444-450.
 33. Brady, C., Hunter, G., Kirk, S., Arnold, D., Denman, S. (2014a): Description of *Brenneria roseae* sp. nov. and two subspecies, *Brenneria roseae* subspecies *roseae* ssp. nov. and *Brenneria roseae* subspecies *americana* ssp. nov. isolated from oak. *Systematic and Applied Microbiology*, **37** (6): 396-401.
 34. Brady, C., Hunter, G., Kirk, S., Arnold, D., Denman, S. (2014b): *Gibbsiella greigii* sp. nov., a novel species associated with oak decline in the USA. *Systematic and Applied Microbiology*, **37** (6): 417-422.
 35. Brady, C., Hunter, G., Kirk, S., Arnold, D., Denman, S. (2014c): *Rahnella victoriana* sp. nov., *Rahnella bruchi* sp. nov., *Rahnella woolbedingensis* sp. nov., classification of *Rahnella* genomospecies 2 and 3 as *Rahnella variigena* sp. nov. and *Rahnella inusitata* sp. nov., respectively and emended description of the genus *Rahnella*. *Systematic and Applied Microbiology*, **37** (8): 545-552.
 36. Brady, C., Kaur, S., Crampton, B., Maddock, D., Arnold, D., Denman, S. (2022a): Transfer of *Erwinia toletana* and *Erwinia iniecta* to a novel genus *Winslowiella* gen. nov. as *Winslowiella toletana* comb. nov. and *Winslowiella iniecta* comb. nov. and description of *Winslowiella arboricola* sp. nov., isolated from bleeding cankers on broadleaf hosts. *Frontiers in Microbiology*, **13**, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1063107>
 37. Brady, C., Orsi, M., Doonan, J. M., Denman, S., Arnold, D. (2022b): *Brenneria goodwinii* growth *in vitro* is improved by competitive interactions with other bacterial species associated with Acute Oak Decline. *Current Research in Microbial Sciences*, **3**: 100102, <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100102>
 38. Brady, C. L., Venter, S. N., Cleenwerck, I., Engelbeen, K., Vancanneyt, M., Swings, J., Coutinho, T. A. (2009): *Pantoea vagans* sp. nov., *Pantoea eucalypti* sp. nov., *Pantoea deleyi* sp. nov. and *Pantoea anthophila* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **59**: 2339-2345.
 39. Brady, C. L., Venter, S. N., Cleenwerck, I., Vandemeulebroecke, K., De Vos, P., Coutinho, T. A. (2010): Transfer of *Pantoea citrea*, *Pantoea punctata* and *Pantoea terreia* to the genus *Tatumella* emend. as *Tatumella citrea* comb. nov., *Tatumella punctata* comb. nov. and *Tatumella terreia* comb. nov. and description of *Tatumella morbirosei* sp. nov. *Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **60**: 484-494.
 40. Brosius, J., Palmer, M. L., Kennedy, P. J., Noller, H. F. (1978): Complete nucleotide sequence of a 16S ribosomal RNA gene from *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **75**: 4801-4805.
 41. Brown, N., Inward, D. J. G., Jeger, M., Denman, S. (2015): A review of *Agrilus biguttatus* in UK forests and its relationship with acute oak decline. *Forestry*, **88**: 53-63.
 42. Brown, N., Jeger, M., Kirk, S., Xu, X., Denman, S. (2016): Spatial and temporal patterns in symptom expression within eight woodlands affected by Acute Oak Decline. *Forest Ecology and Management*, **360**: 97-109.
 43. Brown, N., Jeger, M., Kirk, S., Williams, D., Xu, X., Pautasso, M., Denman, S. (2017): Acute Oak Decline and *Agrilus biguttatus*: The Co-Occurrence of Stem Bleeding and D-Shaped Emergence Holes in Great Britain. *Forests*, **8** (87), [doi:10.3390/f8030087](https://doi.org/10.3390/f8030087)
 44. Brown, N., Vanguelova, E., Parnell, S., Broadmeadow, S., Denman, S. (2018): Predisposition of forests to biotic disturbance: Predicting the distribution of Acute Oak Decline using environmental factors. *Forest Ecology and Management*, **407**: 145-154.

45. Brune, M. (2016): Urban trees under climate change. Potential impacts of dry spells and heat waves in three German regions in the 2050s. Climate Service Center Germany, Hamburg, Report 24.
46. Bueno-Gonzalez, V. (2022): Towards a rapid diagnostic method to identify bacteria associated with AOD. Doktori disszertáció, University of the West of England, Faculty of Applied Biosciences, Bristol.
47. Bueno-Gonzalez, V., Brady, C., Denman, S., Plummer, S., Allainguillaume, J., Arnold, D. (2019): *Pseudomonas daroniae* sp. nov. and *Pseudomonas dryadis* sp. nov., isolated from pedunculate oak affected by acute oak decline in the UK. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **69** (11): 3368-3376.
48. Bueno-Gonzalez, V., Brady, C., Denman, S., Plummer, S., Allainguillaume, J., Arnold, D. (2020): *Pseudomonas kirkiae* sp. nov., a novel species isolated from oak in the United Kingdom, and phylogenetic considerations of the genera *Pseudomonas*, *Azotobacter* and *Azomonas*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **70** (4): 2426-2434.
49. Burkholder, W. R., McFadden, L. A., Dimock, E. W. (1953): A bacterial blight of Chrysanthemums. *Phytopathology*, **43** (9): 522-526.
50. Chari, A., Oakeson, K. F., Enomoto, S., Jackson, D. G., Fischer, M. A., Dale, C. (2015): Phenotypic characterization of *Sodalis praecaptivus* sp. nov., a close non-insect-associated member of the *Sodalis*-allied lineage of insect endosymbionts. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **65** (5): 1400-1405.
51. Crampton, B., Brady, C., Denman, S. (2022): Bacterial tree disease fact sheets. *Forest Research*, <https://bacterialplantdiseases.uk/new-bacterial-tree-disease-factsheets/>
52. Crampton, B., Brady, C., Denman, S. (2023): Bacterial tree disease fact sheets. *Forest Research*, <https://bacterialplantdiseases.uk/new-lonsdalea-tree-diseases-factsheets/>
53. Coder, R. D. (2011): Identified Benefits of Community Trees & Forests. *Community Forest Series*, The University of Georgia, Warnell School of Forestry and Natural Resources, WSFNR11-01.
54. Csóka, Gy., Hirka, A., Koltay, A., Kolozs, L. (2013): Erdőkárok képes útmutató. NÉBIH Erdészeti Igazgatósága és az Erdészeti Tudományos Intézet, Budapest.
55. Dale, C., Maudlin, I. (1999): *Sodalis* gen. nov. and *Sodalis glossinidius* sp. nov., a microaerophilic secondary endosymbiont of the tsetse fly *Glossina morsitans morsitans*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **49** (1): 267-275.
56. Dauga, C. (2002): Evolution of the *gyrB* gene and the molecular phylogeny of *Enterobacteriaceae*: a model molecule for molecular systematic studies. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **52**: 531-547.
57. Day, W. R. (1924): The Watermark Disease of the Cricket-Bat Willow (*Salix caerulea*). *Oxford Forestry Memoirs*, Oxford, UK: Clarendon Press, **3**: 1-30.
58. Day, W. R. (1927): The oak mildew *Microsphaera Quercina* (Schw.) Burrill and *Armillaria Mellea* (Vahl) Quél. in relation to the dying back of oak. *Forestry*, **1** (1): 10-112.
59. Davidsson, P. R., Kariola, T., Niemi, O., Palva, E. T. (2013): Pathogenicity of and plant immunity to soft rot pectobacteria. *Frontiers in Plant Science*, **4**: 191.
60. Decré, D., Verdet, C., Emirian, A., Le Gourrierec, T., Petit, J-C., Offenstadt, G., Maury, E., Brisse, S., Arlet, G. (2011): Emerging Severe and Fatal Infections Due to *Klebsiella pneumoniae* in Two University Hospitals in France. *Journal of Clinical Microbiology*, **49** (8): 3012-3014.
61. Denman, S., Brady, C., Kirk, S., Cleenwerck, I., Venter, S., Coutinho, T., De Vos, P. (2012): *Brenneria goodwinii* sp. nov., associated with acute oak decline in the UK. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **62**: 2451-2456.

62. Denman, S., Brown, N., Kirk, S., Jeger, M., Webber, J. (2014): A description of the symptoms of Acute Oak Decline in Britain and a comparative review on causes of similar disorders on oak in Europe. *Forestry*, **87**: 535-551.
63. Denman, S., Doonan, J., Ransom-Jones, E., Broberg, M., Plummer, S., Kirk, S., Scarlett, K., Griffiths, A. R., Kaczmarek, M., Forster, J., Peace, A., Golyshin, P. N., Hassard, F., Brown, N., Kenny, J. G., McDonald, J. E. (2018): Microbiome and infectivity studies reveal complex polyspecies tree disease in Acute Oak Decline. *The ISME Journal*. **12**: 386-399.
64. Denman, S., Kirk, S., Webber, J. (2010): Managing acute oak decline. *Forest Commission Practice Note 015*, Stockport, UK: Forestry Commission.
65. Denman, S., Webber, J. (2009): Oak declines – new definitions and new episodes in Britain. *Quarterly Journal of Forestry*, **103** (4): 285-290.
66. Doonan, J. M., Broberg, M., Denman, S., McDonald, J. E. (2020): Host-microbiota-insect interactions drive emergent virulence in a complex tree disease. *Proceedings of the Royal Society B*, **287** (1933): 20200956.
67. Dowson, W. J. (1937): *Bacterium salicis* Day, the cause of the watermark disease of the Cricket-Bat willow. *The Annals of Applied Biology*, **XXIV** (3): 528-545.
68. Drancourt, M., Bollet, C., Carta, A., Rousselier, P. (2001): Phylogenetic analyses of *Klebsiella* species delineate *Klebsiella* and *Raoultella* gen. nov., with description of *Raoultella ornithinolytica* comb. nov., *Raoultella terrigena* comb. nov. and *Raoultella planticola* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **51**: 925-932.
69. EPPO (2013): First Report of *Pseudomonas syringae* pv. *aesculi* in Hungary. *EPPO Reporting Service*, **10**: 2013/212.
70. EPPO (2018): First Report of *Brenneria goodwinii* and *Gibbsiella quercinecans* in Latvia. *EPPO Reporting Service*, **06**: 2018/126.
71. Erjavec, M. S. (2019): Annealing Temperature of 55 °C and Specificity of Primer Binding in PCR Reactions. In: Nagpal, M. L., Boldura, O., Baltă, C., Enany, S. editors. *Synthetic Biology – New Interdisciplinary Science*, London: IntechOpen; 2019 Online: <https://www.intechopen.com/chapters/66513>, doi: 10.5772/intechopen.85164 [accessed on 2022 Aug 01].
72. Esperon-Rodriguez, M., Tjoelker, M. G., Lenoir, J., Baumgartner, J. B., Beaumont, L. J., Nipperess, D. A., Power, S. A., Richard, B., Rymer, P. D., Gallagher, R. V. (2022): Climate change increases global risk to urban forests. *Nature Climate Change*, **12**: 950-955.
73. Fernandes, C., Duarte, L., Naves, P., Sousa, E., Cruz, L. (2022): First report of *Brenneria goodwinii* causing acute oak decline on *Quercus suber* in Portugal. *Journal of Plant Pathology*, **104**: 837-838.
74. Fernández-Borrero, O., López-Duque, S. (1970): Pudricion acousa del susedo tallo del plátano (*Musa paradisiaca*) causada por *Erwinia paradisiaca*, n. sp. *Cenicafe*, **21** (1): 3-44.
75. Firouzianbandpey, S., Khodaygan, P. (2023): *Gibbsiella quercinecans*, a pathogen with an increasing prevalence: A study on the causative agents of bacterial canker of Persian walnut and oak trees in central provinces of Iran. *Plant Pathology*, **73** (1): 198-212.
76. Fischer, B., Turner, R. K., Morling, P. (2009): Defining and classifying ecosystem services for decision making. *Ecological Economics*, **68** (3): 643-653.
77. Forestry Commission (2010): The case for trees in development and the urban environment. *Forestry Commission England*.
78. Forman, R. T. T. (2014): Urban Ecology: Science of Cities. *Cambridge University Press*,
79. Freer-Smith, P. H., Webber, J. F. (2017): Tree pests and diseases: the threat to diversity and the delivery of ecosystem services. *Biodiversity and Conservation*, **26**: 3167-3181.

80. Frutos, D. (2010): Bacterial diseases of walnut and hazelnut and genetic resources. *Journal of Plant Pathology*, **91**: 79-85.
81. Gardner, J. M., Kado, I. (1976): Polygalacturonic Acid *trans*-Eliminase in the Osmotic Shock Fluid of *Erwinia rubrifaciens*: Characterization of the Purified Enzyme and Its Effect on Plant cells. *Journal of Bactriology*, **127** (1): 451-460.
82. Gašić, K., Zlatković, N., Kuzmanović, N. (2022): Polyphasic study of phytopathogenic bacterial strains associated with deep bark canker of walnut in Serbia revealed a new species, *Brenneria izbisi* sp. nov. *Frontiers in Plant Science*, 13:1055186. doi: 10.3389/fpls.2022.1055186
83. Gathercole, L. A. P., Nocchi, G., Brown, N., Coker, T. L. R., Plumb, W. J., Stocks, J. J., Nichols, R. A., Denman, S., Buggs, R. J. A. (2021): Evidence for the Widespread Occurrence of Bacteria Implicated in Acute Oak Decline from Incidental Genetic Sampling. *Forests*, **12** (12): 1683.
84. Geider, K., Gernold, M., Jock, S., Wensing, A., Völksch, B., Gross, J., Spiteller, D. (2015): Unifying bacteria from decaying wood with various ubiquitous *Gibbsiella* species as *G. acetica* sp. nov. based on nucleotide sequence similarities and their acetic acid secretion. *Microbiological Research*, **181**: 93-104.
85. Gibbs, J. N., Greig, B. J. W. (1997): Biotic and abiotic factors affecting the dying back of pedunculate oak *Quercus robur* L. *Forestry*, **70** (4): 399-406.
86. Giorcelli, A., Gennaro, M. (2014): Necrosi corticali da *Brenneria nigrifluens* e altri batteri su noce in impianti piemontesi: studio dell'evoluzione della malattia in campo e caratterizzazione di isolati con rep-PCR. *Forest@*, **11**: 180-188.
87. Glits, M., Folk, Gy. (2000): Kertészeti növénykórtan. *Mezőgazda Kiadó*, Budapest.
88. González, A. J., Ciordia, M. (2020): *Brenneria goodwinii* and *Gibbsiella quercinecans* isolated from weeping cankers on *Quercus robur* L. in Spain. *European Journal of Plant Pathology*. **156**: 965-969.
89. González, R., López-López, M. J., Biosca, E., López, F., Santiago, R., López, M. M. (2002): First report of Bacterial Deep Bark Canker of Walnut Caused by *Brenneria* (*Erwinia*) *rubrifaciens* in Europe. *Plant Disease*, **86** (6): 696.
90. Grosso, S., Mason, G., Ortalda, E., Scortichini, M. (2011): *Brenneria salicis* Associated with Watermark Disease Symptoms on *Salix alba* in Italy. *Plant Disease*, **95** (6): 772.
91. Gyenis, K., Péntes, B., Hegyi, T. (2005): Fitofág és ragadozó atkafajok vadgesztenyén. *Növényvédelem*, **41** (4): 143-148.
92. Haavik, L. J., Billings, S. A., Guldin, J. M., Stephen, F. M. (2015): Emergent insects, pathogens and drought shape changing patterns in oak decline in North America and Europe. *Forest Ecology and Management*, **354**: 190-205.
93. Hajjaligol, M., Charkhabi, N. F., Shahryari, F., Sarikhani, S. (2023): Association of *Rahnella victoriana*, *Enterobacter hormaechei* subsp. *hoffmannii* and *Citrobacter braakii* with walnut decline. *Scientific Reports*, **13**: 11286.
94. Hauben, L., Steenackers, M., Swings, J. (1998a): PCR-Based Detection of the Causal Agent of Watermark Disease in Willows (*Salix* spp.). *Applied and Environmental Microbiology*, **64** (10): 3966-3971.
95. Hauben, L., Moore, E. R., Vauterin, L., Steenackers, M., Mergaert, J., Verdonck, L., Swings, J. (1998b): Phylogenetic Position of Phytopathogens within the *Enterobacteriaceae*. *Systematic and Applied Microbiology*, **21**: 384-397.
96. Hauben, L., Swings, J. (2015): *Brenneria*. In: Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. *Wiley & Sons Inc., in association with Bergey's Manual Trust*, 1-14.
97. Hedegaard, J., Steffensen, S. A., Nørskov-Lauritsen, N., Mortensen, K. K., Sperling-Petersen, H. U. (1999): Identification of *Enterobacteriaceae* by partial sequencing of the gene encoding translation initiation factor 2. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **49**: 1531-1538.

98. Helbig, C., Müller, M. (2009): Abiotische und Biotische Schadfaktoren in Kurzumtriebsplantagen. In: Reeg, T., Bemann, A., Konold, W., Murach, D., Spiecker, H. (szerkesztők): Anbau an Nutzung von Bäumen auf landwirtschaftlichen Flächen. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
99. Hildebrand, D. C., Schroth, M. N. (1967): A new species of *Erwinia quercina* causing the drippy nut disease of live oaks. *Phytopathology*, **57** (3): 250-253.
100. Hirka, A., Koltay, A., Csóka, Gy. (2024): Magyarországi erdőkárok 2022-ben, a kárjelentések alapján. *Növényvédelem*, **85** (1): 1-7.
101. Hoyk, E. (2018): A városi zöld infrastruktúra vizsgálata a klímaváltozással szembeni adaptációban. *Journal of Central European Green Innovation*, **6** (1): 13-34.
102. Hugouvieux-Cotte-Pattat, N., Jacot-des-Combes, C., Briolay, J., Pritchard, L. (2021): Proposal for the creation of a new genus *Musicola* gen. nov., reclassification of *Dickeya paradisiaca* (Samson et al. 2005) as *Musicola paradisiaca* comb. nov. and description of a new species *Musicola keenii* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **71** (10): 5037.
103. Iličić, R., Bagi, F., Blagojević, M., Gošić, J., Milovanović, P., Popović, T. (2021): Etiology of bacterial diseases of young walnut trees in Serbia. *Pesticides and Phytomedicine*, **36** (3): 101-109.
104. Imhoff J. F. (2005): Enterobacteriales. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* US: Springer, 587-850.
105. Janse, J. D. (2005): Phytobacteriology. Principles and practice. CABI Publishing, Cambridge, USA.
106. Jenser, G., Mészáros, Z., Sáringer, Gy. (1998): A szántóföldi és kertészeti növények kártevői. *Mezőgazda Kiadó*, Budapest.
107. Jones, R. K., Benson, M. (2001): Diseases of Woody Ornamentals and Trees in Nurseries. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.
108. Kämpfer, P., Ruppel, S., Remus, R. (2005): *Enterobacter radicincitans* sp. nov., a plant growth promoting species of the family *Enterobacteriaceae*. *Systematic and Applied Microbiology*, **28** (3): 213-221.
109. Kile, H., Arnold, D., Allainguillaume, J., Denman, S., Brady, C. (2022): *Brenneria tiliae* sp. nov., isolated from symptomatic *Tilia x moltkei* and *Tilia x europaea* trees in the UK. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **72** (10), <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005515>
110. Kimura, M. (1980): A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, **16**: 111-120.
111. King, E. O., Ward, M. K., Raney, D. E. (1954): Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **44** (2): 301-307.
112. Kisné Fodor, L., Zsembery, R., Koncz, P., Tanács, E. (2021): A természet ajándékai: Ökoszisztéma-szolgáltatásokról mindenkinek. *Természetvédelmi füzetek* 9. Agrárminisztérium, Budapest. ISSN: 2786-1678
113. Kiss, M., Bátoriné Nagy, I. R., Buzás, K., Gulyás, Á., Lenkei, P., Mészáros, R., Pinke, Zs., Tanács, E. (2021a): A városi ökoszisztéma-szolgáltatások értékelése – Az ökoszisztéma állapottól a ténylegesen igénybe vett ökoszisztéma-szolgáltatás értékeléséig. *A közösségi jellegű természeti értékek hosszú távú megőrzését és fejlesztését, valamint az EU biológiai sokféleség stratégia 2020 célkitűzéseinek hazai szintű megvalósítását megalapozó stratégiai vizsgálatok projekt, Ökoszisztéma-szolgáltatások projektjelem.* Agrárminisztérium, Budapest.

114. Kiss, M., Zsembery, R., Kisné Fodor, L. (2021b): Természet a betonrengetegben: Fókuszban a városi ökoszisztéma-szolgáltatások értékelése. *Természetvédelmi füzetek 13.* Agrárminisztérium, Budapest. ISSN: 2786-1678
115. Klement, Z. (1963): Rapid Detection of the Pathogenicity of Phytopathogenic Pseudomonads. *Nature*, **199**: 299-300.
116. Koch, R. (1876): Untersuchungen Über die Aetiologie der Wundinfektionskrankheiten. Leipzig. F. C. W. Vogel. 8-62.
117. Koltay, A., Lakatos, T., Tóth, T. (2022): Mindig van új a nap alatt – Baktériumos kéregelhalás tölgyeken. *Erdészeti Lapok*, **157** (9): 298-300.
118. Kontschán, J. (2014): Szilfán (*Ulmus* sp.) élő, Magyarország faunájára új takácsatka: *Bryobia ulmophila* Reck, 1947 (Acari: Tetranychidae: Bryobiinae) bemutatása. *Növényvédelem*, **50** (1): 9-11.
119. Kovács, E., Kelemen, E., Pataki, Gy. (2011): Ökoszisztéma-szolgáltatások a tudományterületek és a szakpolitikák metszéspontjában. *Természetvédelmi Közlemények*, **17**: 1-11.
120. Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K. (2016): MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, **33**: 1870-1874.
121. Kuo, F. E. (2003): Social aspects of urban forestry: the role of arboriculture in a healthy social ecology. *Journal of Arboriculture*, **29** (3): 148-155.
122. Lakatos, F., Szabó, I. (2012): Növényvédelem az erdőgazdálkodásban. *Szaktudás Kiadó Ház Zrt.* Budapest, 110.
123. Lakatos, T., Tóth, T., Ádám, Sz., Tenorio-Baigorria, I., Sallmannshofer, M., Koltay, A. (2024): Widespread occurrence of Acute Oak Decline pathobiom in Hungary. (folyamatban)
124. Landsberg, H. E. (1981): The Urban Climate. *Academic Press*, New York – London – Toronto – Sydney – San Francisco.
125. Lapage, S. P., Sneath, P. H. A., Lessel, E. F., Skerman, V. B. D., Seeliger, H. P. R., Clark, W. A. (1992): International Code of Nomenclature of Bacteria: Bacteriological Code, 1990 Revision. Washington (DC): *ASM Press International Union of Microbiological Societies*.
126. Lee, S. D., Kim, I. S., Choe, H., Kim, J-S. (2021): *Acerihabitans arboris* gen. nov., sp. nov., a new member of the family *Pectobacteriaceae* isolated from sap drawn from *Acer pictum*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **71** (3): 0.
127. Lindeijer, E. J. (1932): De Bacterie-Ziekte van der Wilg veroorzaakt door *Pseudomonas Saliciperda* n. sp. Baarn: Hollandia –drukerij.
128. Li, X., Zhang, D., Chen, F., Ma, J., Dong, Y., Zhang, L. (2004): *Klebsiella singaporensis* sp. nov., a novel isomaltulose-producing bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **54**: 2131-2136.
129. Li, Y., Fang, W., Xue, H., Liang, W-x., Wang, L-f., Tian, G-z., Wang, X-z., Li, X., Piao, C-g. (2015): *Brenneria populi* sp. nov., isolated from symptomatic bark of *Populus x euramericana* canker. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **65**: 432-437.
130. Li, Y., He, W., Ren, F., Guo, L., Chang, J., Cleenwerck, I., Ma, Y., Wang, H. (2014): A Canker Disease of *Populus x euramericana* in China Caused by *Lonsdalea quercina* subsp. *populi*. *Plant Disease*, **98** (3): 368-378.
131. Li, Y., Xue, H., Guo, L-m., Koltay, A., Palacio-Bielsa, A., Chang, J., Xie, S., Yang, X. (2017): Elevation of three subspecies of *Lonsdalea quercina* to species level: *Lonsdalea britannica* sp. nov., *Lonsdalea iberica* sp. nov. and *Lonsdalea populi* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **67**: 4680-4684.
132. Li, Y., Wang, H. M., Chang, J. P., Guo, L. M., Yang, X. Q., Xu, W. (2019a): A New Bacterial Bark Canker Disease of *Salix matsudana* Caused by *Lonsdalea populi* in China. *Plant Disease*, **103** (9): 2467.

133. Li, Y., Zheng, M-h., Wang, H-m., Lin, C-l., Wang, X-z. (2019b): *Brenneria corticis* sp. nov., isolated from symptomatic bark of *Populus x euramericana* canker. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **69** (1): 63-67.
134. Lopez, M. M., Marti, R., Morente, C., Orellana, N., Ninot, T., Aleta, N. (1994): Phytopathogenic bacteria identified in Spain. *Investigación Agraria, Producción y protección vegetales*, **2**: 307-314.
135. Lu, S-E., Gross, D. C. (2010): Drippy Pod of White Lupine: A New Bacterial Disease Caused by a Pathovar of *Brenneria quercina*. *Plant Disease*, **94** (12): 1431-1440.
136. Ma, B., Hibbing, M. E., Kim, H-S., Reedy, R. M., Yedidia, I., Breuer, J., Breuer, J., Glasner, J. D., Perna N. T., Kelman, A., Charkowski, A. O. (2007): Host Range and Molecular Phylogenies of Soft Rot Enterobacterial Genera *Pectobacterium* and *Dickeya*. *Bacteriology*, **97** (9): 1150-1163.
137. Macháčová, M., Nakládal, O., Samek, M., Baťa, D., Zúmr, V., Pešková, V. (2022): Oak Decline Caused by Biotic and Abiotic Factors in Central Europe: A Case Study from the Czech Republic. *Forests*, **13** (8): 1223.
138. Maddock, D., Arnold, D., Denman, S., Brady, C. (2022b): Description of a novel species of *Leclercia*, *Leclercia tamurae* sp. nov. and proposal of a novel genus *Silvania* gen. nov. containing two novel species *Silvania hatchlandensis* sp. nov. and *Silvania confinis* sp. nov. isolated from the rhizosphere of oak. *BMC Microbiology*, **22**: 289.
139. Maddock, D., Brady, C., Denman, S., Arnold, D. (2023a): Description of *Dryocola* gen. nov. and two novel species, *Dryocola boscaweniae* sp. nov. and *Dryocola clanedunensis* sp. nov. isolated from the rhizosphere of native British oaks. *Systematic and Applied Microbiology*, **46** (2): 126399. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2023.126399>
140. Maddock, D., Brady, C., Denman, S., Arnold, D. (2023b): Bacteria Associated with Acute Oak Decline: Where Did They Come From? We Know Where They Go. *Microorganisms*, **11**: 2789. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11112789>
141. Maddock, D., Kile, H., Denman, S., Arnold, D., Brady, C. (2022a): Description of three novel species of *Scandinavium*: *Scandinavium hiltneri* sp. nov., *Scandinavium manionii* sp. nov. and *Scandinavium tedordense* sp. nov., isolated from the oak rhizosphere and bleeding cankers of broadleaf hosts. *Frontiers in Microbiology*, **13**, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1011653>
142. Maes, M., Huvenne, H., Messens, E. (2009): *Brenneria salicis*, the bacterium causing watermark disease in willow, resides as an endophyte in wood. *Environmental Microbiology*, **11** (6): 1453-1462.
143. Mazzaglia, A., Fabi, A., Belisario, A., Librandi, I., Cefalo, G., Varvaro, L., Anselmi, N. (2006): Bark Cankers on English Walnut: an Emerging Disease. *Acta Horticulturae*, **705**: 437-442.
144. McClean, A. E., Kluepfel, D. A. (2009): Genetic Loci Involved in Rubrifacine Production in the Walnut Pathogen *Brenneria rubrifaciens*. *Bacteriology*, **99** (2): 145-151.
145. McClean, A. E., Sudarshana, P., Kluepfel, D. A. (2008): Enhanced detection and isolation of the walnut pathogen *Brenneria rubrifaciens*, causal agent of deep bark canker. *European Journal of Plant Pathology*, **122**: 413-424.
146. McEvoy, A., O'Regan, F., Fleming, C. C., Moreland, B. P., Pollock, J. A., McGuinness, B. W., Hodkinson, T. R. (2016): Bleeding canker of horse chestnut (*Aesculus hippocastanum*) in Ireland: incidence, severity and characterization using DNA sequences and real-time PCR. *Plant Pathology*, **65**: 1419-1429.
147. MEA – Millenium Ecosystem Assessment (2003): Ecosystems and Human Well-being: A Framework for Assessment. *Island Press*, Washington DC.
148. Metcalfe, G. (1940): The Watermark Disease of Willows. In: Host-Parasite Relationships. *New Phytologist*, **39** (3): 322-332.

149. Meyer, J. B., Schneider, S., Forster, B., Ruffner, B. (2018): Krankheitserregende Bakterien an Traubeneichen. In: Waldschutzüberblick 2017. *WSL Berichte*, **67**: 22.
150. Ménard, M., Delort, F., Baudry, A., Le Saux, M. (2004): First Report of Bacterial Canker of Walnut Caused by *Brenneria nigrifluens* in France. *Plant Disease*, **88** (2): 220.
151. Mika, J. (2012): A globális klímaváltozás és a városi hősziget összefüggései. In: Fenntartható fejlődés, élhető régió, élhető települési táj. 1. kötet, Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest.
152. Moghaddam, M., Alymanesh, M. R., Mehdizadeh, L., Mirzaei, H., Pirbalouti, A. G. (2014): Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Ocimum ciliatum*, as a new source of methyl chavicol, against ten phytopathogens. *Industrial Crops and Products*, **59**: 144-148.
153. Mollet, C., Drancourt, M., Raoult, D. (1997): *rpoB* sequence analysis as a novel basis for bacterial identification. *Molecular Microbiology*, **26** (5): 1005-1011.
154. Moradi-Amirabad, Y., Khodakaramian, G. (2020): *Brenneria alni*, causal agent bark canker of *Alnus subcordata*. *Journal of Phytopathology*, **168** (9): 516-523.
155. Moradi-Amirabad, Y., Khodakaramian, G., Coutinho, T. (2021): Isolation and Characterization of a *Brenneria* sp. Shown to Be the Casual Agent of Bleeding Canker Disease of *Populus nigra* in Iran. *Russian Agricultural Sciences*, **47** (6): 584-595.
156. Moradi-Amirabad, Y., Rahimian, H., Babaeizad, V., Denman, S. (2019): *Brenneria* sp. and *Rahnella victoriana* associated with acute oak decline symptoms on oak and hornbeam. *Forest Pathology*. **49** (4), e12535
157. Moretti, C., Buonauro, R. (2010): Immature walnut fruit inoculation for evaluation of *Brenneria nigrifluens* pathogenicity. *Phytopathologia Mediterranea*, **49**: 80-83.
158. Moretti, C., Hosni, T., Vandemeulebroecke, K., Brady, C., De Vos, P., Buonauro, R., Cleenwerck, I. (2011): *Erwinia oleae* sp. nov., isolated from olive knots caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **61**: 2745-2752.
159. Moretti, C., Silvestri, F. M., Rossini, E., Natalini, G., Buonauro, R. (2007): A protocol for rapid identification of *Brenneria nigrifluens* among bacteria isolated from bark cankers in Persian walnut plants. *Journal of Plant Pathology*, **89** (2): 211-218.
160. Morone, C., Janse, J. D., Scortichini, M. (1998): Bark Canker of Persian Walnut (*Juglans regia*) Trees Incited by *Erwinia nigrifluens* in Italy. *Journal of Phytopathology*, **146**: 637-639.
161. Nadal-Jimenez, P., Siozios, S., Halliday, N., Cámara, M., Hurst, G. D. D. (2022): *Symbiopectobacterium purcellii*, gen. nov., sp. nov., isolated from the leafhopper *Empoasca decipiens*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **72** (6): 005440. DOI 10.1099/ijsem.0.005440
162. Naum, M., Brown, E. W., Mason-Gamer, R. J. (2008): Is 16S rDNA a Reliable Phylogenetic Marker to Characterize Relationships Below the Family Level in the Enterobacteriaceae? *Journal of Molecular Evolution*, **66**: 630-642.
163. Nei, M., Kumar, S. (2000): Molecular Evolution and Phylogenetics. *Oxford University Press*, New York.
164. Németh, J., Csonka, I., Szabó, L. (1999): *Erwinia salicis* okozta fapusztulás fehérfűz állományban. 45. *Növényvédelmi Tudományos Napok*, Budapest, 119.
165. Németh, J., Vajna, L. (2014): Vadgesztenye baktériumos kéregfekélyének első magyarországi megjelenése. 60. *Növényvédelmi Tudományos Napok*, Budapest, 57.
166. Nowak, D. J., Heisler, G. M. (2010): Air Quality Effects of Urban Trees and Parks. *Research Series*, National Recreation and Park Association.
167. Ochoa, T. J., Contreras, C. A. (2011): Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) infection in children. *Current Opinion in Infectious Diseases*, **24** (5): 478-483.

168. Ocskó, Z., Erdős, Gy., Molnár, J. (2022): Növényvédő szerek, termésnövelő anyagok I. Agrárkönyvek Kiadó, Budapest.
169. Oh, C-S., Beer, S. V. (2005): Molecular genetics of *Erwinia amylovora* involved in the development of fire blight. *FEMS Microbiology Letters*, **253** (2): 185-192.
170. Paradis, S., Boissinot, M., Paquette, N., Bélanger, S. D., Martel, E. A., Boudreau, D. K., Picard, F. J., Ouellette, M., Hoy, P. H., Bergeron, M. G. (2005): Phylogeny of the *Enterobacteriaceae* based on genes encoding elongation factor T and T-ATPase beta-subunit. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **55**: 2013-2025.
171. Parte, A. C. (2014): LPSN—list of procariotic names with standing in nomenclature. *Nucleic Acids Research*, **42**: D613-D616.
172. Parte, A. C., Sardá Carbasse, J., Meier-Kolthoff, J. P., Reimer, L. C., Göker, M. (2020): List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **70**: 5607-5612.
173. Pechous, R. D., Sivaraman, V., Stasulli, N. M., Goldman, W. E. (2016): Pneumonic Plaque: The Darker Side of *Yersinia pestis*. *Trends in Microbiology*, **24** (3): 190-197.
174. Peng, S., Piao, S., Ciais, P., Friedlingstein, P., Ottle, C., Bréon, F.-M., Nan, H., Zhou, L., Myneni, R. B. (2012): Surface Urban Heat Island Across 419 Global Big Cities. *Environmental Science and Technology*, **46**: 696-703.
175. Pernek, M., Kovač, M., Jukić, A., Dubravac, T., Lacković, N., Brady, C. (2022): Acute oak decline (AOD) new complex disease on holm oak (*Quercus ilex* L.) and possibilities of spread on other species in Croatia. *Šumarski list*, **146** (9-10).
176. Pettifor, B. J., Doonan, J., Denman, S., McDonald, J. E. (2020): Survival of *Brenneria goodwinii* and *Gibbsiella quercinecans*, Associated with Acute Oak Decline, in Rainwater and Forest Soil. *Systematic and Applied Microbiology*, **43** (2), e126052.
177. Phillips, D. H., Burdekin, D. A. (1982): Diseases of forest and ornamental trees. *The Macmillan Press Ltd.*, London, UK.
178. Piccirillo, P. (2003): Il quadro fitopatologico del noce (*Juglans regia* L.) attraverso le osservazioni dell'Isf di Caserta. *Rivista di frutticoltura e di ortofloricoltura*, **65** (10): 39-43.
179. Pinho, D., Barroso, C., Froufe, H., Brown, N., Vanguelova, E., Egas, C., Denman, S. (2020): Linking Tree Health, Rhizosphere Physicochemical Properties, and Microbiome in Acute Oak Decline. *Forests*, **11** (11): 1153.
180. Popović, T., Ivanović, Ž., Živković, S., Trkulja, N., Ignjatov, M. (2013): First Report of *Brenneria nigrifluens* as the Causal Agent of Shallow-Bark Canker on Walnut Trees (*Juglans regia*) in Serbia. *Plant Disease*, **97** (11): 1504.
181. Pretzsch, H., Biber, P., Uhl, E., Dahlhausen, J., Schütze, G., Perkins, D., Rötzer, T., Caldentey, J., Koie, T., van Con, Tran, Chavanne, A., du Toit, B., Foster, K., Lefer, B. (2017): Climate change accelerates growth of urban trees in metropolices worldwide. *Nature Scientific Reports*, **7**, 15403, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14831-w>
182. Rahimian, H. (1989): Bacterial canker of walnut trees in Sari. Book of Abstracts. *Proceedings of the 9th Plant Protection Congress*, Mashaad, Iran, 9-14 September 1989, 30.
183. Reece, R. J., Maxwell, A. (1991): DNA Gyrase: Structure and Function. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, **26** (3/4): 335-375.
184. Rijckaert, C., Van Tomme, R., Steenackers, V., Swings, J., De Ley, J. (1984): The occurrence of the watermark disease of willows (*Salix*) in Belgium. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit*, Gent, **49**: 509-515.
185. Ripka, G. (2004): A zöldfelületek növényegészségügyi helyzete. *Növényvédelem*, **40** (8): 385-392.

186. Ruffner, B., Schneider, S., Meyer, J. B., Queloz, V., Rigling, D. (2020): First report of acute oak decline disease of native and non-native oaks in Switzerland. *New Disease Reports*, **41**: 18.
187. 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.
188. Sæbø, A., Borzan, Ž, Ducatillion, C., Hatzistathis, A., Lagerström, T., Supuka, J., García-Valdecantos, J. L., Rego, F., Van Slycken, J. (2005): The Selection of Plant Materials for Street Trees, Park Trees and Urban Woodland. In: Konijnendijk, C. C., Nilsson, K., Randrup, T. B., Schipperijn, J. (szerzők): Urban Forests and Trees. *Springer*, 257-280.
189. Sakamoto, Y. (2001): A Pathological Study of the Bacterial Tree Diseases Found in Hokkaido, Northern Japan. *Bulletin of Forestry and Forest Products Research Institute*, **381**: 1-42.
190. Sakamoto, Y., Takikawa, Y., Sasaki, K. (1999): Occurrence of watermark disease of willows in Japan. *Plant Pathology*, **48**: 613-619.
191. Sallé, A., Nageleisen, L.-M., Lieutier, F. (2014): Bark and wood boring insects involved in oak declines in Europe: Current knowledge and future prospects in a context of climate change. *Forest Ecology and Management*, **328**: 79-93.
192. Samson, R., Legendre, J. B., Christen, R., Fischer-Le Saux, M., Achouak, W., Gardan, L. (2005): Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) Brenner et al. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zeae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **55** (4): 1415-1427.
193. Sapp, M., Lewis, E., Moss, S., Barrett, B., Kirk, S., Elphinstone, J. G., Denman, S. (2016): Metabarcoding of Bacteria Associated with the Acute Oak Decline Syndrome in England. *Forests*, **7** (95): 1-20.
194. Schmidt, G., Tóth, I. (2006): Kertészeti Dendrológia. *Mezőgazda Kiadó*, Budapest.
195. Schmidt, O. (2014): »Urban Forestry« – Chance für die Forstwirtschaft. *LWF Aktuell*, **98**: 9-11.
196. Sitz, R. A., Aquino, V. M., Tisserat, N. A., Cranshaw, W. S., Stewart, J. E. (2019): Insects Visiting Drippy Blight Diseased Red Oak Trees Are Contaminated with the Pathogenic Bacterium *Lonsdalea quercina*. *Plant Disease*, **103** (8): 1940-1946.
197. Sitz, R. A., Zerillo, M. M., Snelling, J., Caballero, J. I., Alexander, K., Nash, K., Tisserat, N. A., Cranshaw, W. S., Stewart, J. E. (2018): Drippy Blight, A Disease of Red Oaks in Colorado, U.S., Produced from the Combined Effect of the Scale Insect *Allokermes galliformis* and the Bacterium *Lonsdalea quercina* subsp. *quercina*. *Arboriculture & Urban Forestry*, **44** (3): 146-153.
198. Shaad, N. W., Wilson, E. E. (1970): Survival of *Erwinia rubrifaciens* in soil. *Phytopathology*, **60**: 557-558.
199. Soutar, C. D., Stavrinides, J. (2020): Phylogenetic analysis supporting the taxonomic revision of eight genera within the bacterial order *Enterobacteriales*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **70** (12): 6524-6530.
200. Soylu, S., Kara, M., Bozkurt, I. A., Soylu, E. M., Kurt, Ş., Uysal, A. (2021): First report of bacterial shallow bark canker of walnut (*Juglans regia*) caused by *Brenneria nigrifluens* in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, **103**: 333.
201. Spröer, C., Mendrock, U., Swiderski, J., Lang, E., Stackebrandt, E. (1999): The phylogenetic position of *Serratia*, *Buttiauxella* and some other genera of the family *Enterobacteriaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **49** (4): 1433-1438.

202. Stephan, R., Van Trappen, S., Cleenwerck, I., Vancanneyt, M., De Vos, P., Lehner, A. (2007): *Enterobacter turicensis* sp. nov. and *Enterobacter helveticus* sp. nov, isolated from fruit powder. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **57**: 820-826.
203. Sulyokné Schwarczinger, I. (2018): Szóbeli közlés
204. Sun, S., Liu, Y., Luan, F. (2020): *Brenneria Yuansilingia* Sp. Nov., Isolated From Symptomatic Bark of Willow Canker. *Research Square*, preprint, <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-322861/v1>
205. Surico, G., Mugnai, L., Pastorelli, R., Giovannetti, L., Stead, D. E. (1996): *Erwinia alni*, a New Species Causing Bark Cankers on Alder (*Alnus* Miller) Species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **46** (3): 720-726.
206. Suslow, T. V., Schroth, M. N., Isaka, : (1982): Application of a Rapid Method for Gram Differentiation of Plant Pathogenic and Saprophytic Bacteria Without Staining. *Phytopathology*, **72** (7): 917-918.
207. Swiecki, T. J., Bernhardt, E. A. (2006): A Field Guide to Insects and Diseases of California Oaks. *General Technical Report PSW-GTR-197*, Albany, CA: Pacific Southwest Research Station, Forest Service, U. S. Department of Agriculture, 72.
208. Szabó, I. (2001): A bibircses nyír (*Betula pendula*) betegségei. *Erdészeti Lapok*, **CXXXVI** (11): 346-347.
209. Szabó, I. (2003): Erdei fák betegségei. *Szaktudás Kiadó Ház*, Budapest.
210. Szabó, I. (2008): A törékeny fűz kórokozói. *Erdészeti Lapok*, **CXLIII** (5): 156-157.
211. Szabó, I. (2016): A mezei szil kórokozói. *Erdészeti Lapok*, **CLI** (6): 203-204.
212. Szabó, K. (2014): Közterületi Sorfák Jegyzéke. Magyar Díszkertészek Szövetsége, Budapest.
213. Szabó, K. (2016): Közterületi Sorfák Jegyzéke. Magyar Díszkertészek Szövetsége, Budapest.
214. Szabó, K. (2018): Közterületi Sorfák Jegyzéke. Magyar Díszkertészek Szövetsége, Budapest.
215. Szabó, K. (2022): Közterületi Sorfák Jegyzéke. Magyar Díszkertészek Szövetsége, Budapest.
216. Szentmihályi, Zs. (2016): Kéregbetegséget okozó *Brenneria* és *Lonsdalea* baktériumfajok elleni védekezési lehetőségek. Diplomamunka, Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar, Budapest.
217. Tamura, K., Nei, M. (1993): Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, **10** (3): 512-526.
218. Tamura, K., Stecher, G., Kumar, S. (2021): MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, **38** (7): 3022-3027.
219. Terlizzi, M. E., Griboudo, G., Maffei, M. E. (2017): UroPathogenic *Escherichia coli* (UPEC) Infections: Virulence Factors, Bladder Responses, Antibiotic, and Nonantibiotic Antimicrobial Strategies. *Frontiers in Microbiology*, **8**: 1566.
220. Teviotdale, B. L., Sibbett, G. S. (1982): Midwinter irrigation can reduce deep bark canker of walnuts. *California Agriculture*, **36**: 6-7.
221. Thomson, S. V., Hildebrand, D. C., Schroth, M. N. (1981): Identification and Nutritional Differentiation of the *Erwinia* Sugar Beet Pathogen from Members of *Erwinia carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. *Phytopathology*, **71** (10): 1037-1042.
222. Thompson, J. D., Higgins, D. G., Gibson, T. J. (1994): CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, **22** (22): 4673-4680.

223. Thomas, F. M., Blank, R., Hartman, G. (2002): Abiotic and biotic factors and their interactions as causes of oak decline in Central Europe. *Forest Pathology*, **32** (4-5): 277-307.
224. Tkaczyk, M., Celma, L., Ruņģis, D. E., Bokuma, G. (2021): First report of *Brenneria goodwinii* and *Gibbsiella quercinecans* bacteria, detected on weaken oak trees in Poland. *Baltic Forestry*, **27** (1): 563.
225. Toth, I. K., van der Wolf, J. M., Saddler, G., Lojkowska, E., Hélias, V., Pirhonen, M., Tsrör, L., Elphinstone, G. (2011): *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathology*, **60**: 385-399.
226. Tóth, I. (1969): Díszfák, díszcserjék. *Mezőgazdasági Kiadó*, Budapest.
227. Tóth, I. (2012): Lomblevelű díszfák, díszcserjék kézikönyve. *Tarkavirág Kereskedelmi és Szolgáltató Kft.*, Budapest.
228. Tóth, J. (1999): Erdészeti rovarok. *Agroinform Kiadó és Nyomda Kft.*, Budapest.
229. Tóth, T., Lakatos, T., Koltay, A. (2013): *Lonsdalea populi* subsp. *populi* subsp. nov., isolated from bark canker of poplar trees. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **63**: 2309-2313.
230. Tóth, T., Lakatos, T. (2023): *Brenneria bubanii* sp. nov., isolated from decaying plant tissues. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **73** (4): 005854.
231. Tubby, K. V., Webber, J. F. (2010): Pests and diseases threatening urban trees under a changing climate. *Forestry*, **83** (4): 451-459.
232. Young, J. M., Park, D-C. (2007): Relationships of plant pathogenic enterobacteria based on partial *atpD*, *carA*, and *recA* as individual and concatenated nucleotide and peptide sequences. *Systematic and Applied Microbiology*, **30** (5): 343-354.
233. Yousefikopaei, F., Taghavi, S. M., Banihashemi, Z. (2007): Occurrence of Shallow Bark Canker of Walnut (*Juglans regia*) in Southern Provinces of Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **10** (9): 1507-1512.
234. Varga, F. (2001): Erdővédelem. *Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó*, Budapest.
235. Verbarg, S., Frühling, A., Cousin, S., Brambilla, E., Gronow, S., Lünsdorf, H., Stackebrandt, E. (2008): *Biostraticola tofi* gen. nov., spec. nov., A Novel Member of the Family *Enterobacteriaceae*. *Current Microbiology*, **56**: 603-608.
236. Végh, A., Soós, I., Palkovics, L. (2015): A *Brenneria salicis* baktériumfaj jellemzése, első hazai molekuláris azonosítása. *61. Növényvédelmi Tudományos Napok*, Budapest, 55.
237. 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.
238. Végh, A., Tóth, A., Zámbo Á., Borsos, G., Palkovics, L. (2014): First Report of Bacterial Bark Canker of Walnut Caused by *Brenneria nigrifluens* in Hungary. *Plant Disease*, **98** (7): 988.
239. Voigt, E., Tóth, M. (2013): Dió buroklégy magyarországi elterjedése 2013 tavaszán. *Növényvédelem*, **49** (8): 341-346.
240. Waldee, E. L. (1945): Comparative studies of some peritrichous phytopathogenic bacteria. *Iowa State Journal of Science*, **19**: 435-484.
241. Walterson, A. M., Stavrinides, J. (2015): *Pantoea*: insights into a highly versatile and diverse genus within the *Enterobacteriaceae*. *FEMS Microbiology Reviews*, **39** (6): 968-984.
242. White, B. A. (1993): PCR Protocols. Current Methods and Applications. 1st edition. *Totowa: Humana Press Inc.*
243. Wilson, E. E., Starr, M. P., Berger, J. A. (1957): Bark canker, a bacterial disease of the Persian Walnut tree. *Phytopathology*, **47** (11): 669-673.

244. Wilson, E. E., Zeitoun, F. M., Fredrickson, D. L. (1967): Bacterial phloem canker, a new disease of Persian walnut trees. *Phytopathology*, **57**: 618-621.
245. Winslow, C-E. A., Broadhurst, J., Buchanan, R. E., Krumwiede, C., Rogers, L. A., Smith, G. H. (1920): The families and genera of the bacteria. Final report of the committee of the society of american bacteriologists on characterization and classification of bacterial types. *The Journal of Bacteriology*, **5** (3): 191-229.
246. Wittig, R. (2008): Siedlungsvegetation. *Stuttgart: Ulmer*.
247. Wolch, J. R., Byrne, J., Newell, J. P. (2014): Urban green space, public health, and environmental justice: The challenge of making cities 'just green enough'. *Landscape and Urban Planning*, **125**: 234-244.
248. Wolf, K. L. (1998): Urban Nature Benefits: Psycho-Social Dimensions of People and Plants. *Center for Urban Horticulture*, University of Washington, College of Forest Resources. Fact sheet 1.
249. Wong, W. C., Preece, T. F. (1973): Infection of Cricket Bat Willow (*Salix alba* var. *caerulea*) Sm. by *Erwinia salicis* (Day) Chester detected in the Field by the Use of a Specific Antiserum. *Plant Pathology*, **22**: 95-97.
250. Zalkalns, O., Celma, L. (2021): The distribution of bacteria *Gibbsiella quercinecans* and *Brenneria goodwinii* in oak (*Quercus robur* L.) stands in Latvia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **875**: 012033.
251. Zheng, M-h., Piao, Ch-g., Xue, H., Guo, M-w., Li, Y. (2017): *Brenneria populi* subsp. *brevivirga* subsp. nov. isolated from symptomatic bar of *Populus x euramericana* canker, and description of *Brenneria populi* subsp. *populi* subsp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **67** (9): 3633-3638.
252. Zlatković, M., Tenorio-Baigorria, I., Lakatos, T., Tóth, T., Koltay, A., Pap, P., Marković, M., Orlović, S. (2020): Bacterial Canker Disease on *Populus x euramericana* Caused by *Lonsdalea populi* in Serbia. *Forests*, **11** (10): 1080.
253. Zolfaghari, R., Dalvand, F., Fayyaz, P., Solla, A. (2022): Maternal drought stress on Persian oak (*Quercus brantii* Lindl.) affects susceptibility to single and combined drought and biotic stress in offspring. *Environmental and Experimental Botany*, **194**: 104716.
254. Zsigó, Gy. (2015): Arrival of invasive pests in our direct environment and control opportunities. *Journal of Agricultural Sciences, Acta Agraria Debreceniensis*, **66**: 23-26.
255. Zsigó, Gy., Polgárné Balogh, E. (2021): Zöldfelületek. Maradjanak egészségesek a vadgesztenyék. *Kertészet és Szőlészet*, **21**: 16-18.
256. Az Európai Parlament és a Tanács 2009/128/EK irányelve (2009. október 21.) a peszticidek fenntartható használatának elérését célzó közösségi fellépés kereteinek meghatározásáról, 1. cikk.
257. 43/2010. (IV. 23.) FVM rendelet a növényvédelmi tevékenységről, 6. § (2a-b).
258. Com/2019/640 final. (12.11.) A Bizottság közleménye az Európai Parlamentnek, az Európai Tanácsnak, a Tanácsnak, az Európai Gazdasági és Szociális Bizottságnak és a Régiók Bizottságának. Az európai zöld megállapodás. 2.1.6.

Internetes hivatkozás:

259. Internet1: <https://novenyvedoszer.nebih.gov.hu/Engedelykereso/kereso>
260. Internet2: QUIAGEN CLC Genomics Workbench 8.5 (<https://digitalinsights.qiagen.com/>)

2. SZÁMÚ MELLÉKLET: IZOLÁTUMAINK ADATAI, AZ ELVÉGZETT VIZSGÁLATOK ÖSSZESÍTÉSE

Izolátum kódja	Gazdanövény	Származási hely	Gyűjtés ideje	Gyűjtötte	Gram teszt	HR	API 20E	Patogenitási teszt	Dió fertőzés	16S rRNS	<i>atpD</i>	<i>gyrB</i>	<i>rpoB</i>	<i>infB</i>
----------------	-------------	-----------------	---------------	-----------	------------	----	---------	--------------------	--------------	----------	-------------	-------------	-------------	-------------

Dióról származó izolátumok

Juglans1 (Bn-WalnutZa-Hun1)	<i>Juglans regia</i>	Zánka	2012.	Karacs-Végh A.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	X	☑	X	X
Juglans2 (BN1L)	<i>Juglans regia</i>	Látrány	2013.	Drótos-Zámbó Á.	☑	☑	X	X	X	☑	☑	X	X	☑

Fűzfáról származó izolátum

Salix1 (Bs1B)	<i>Salix alba</i>	Budapest	2012.	Karacs-Végh A.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	X	☑	☑
------------------	-------------------	----------	-------	----------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Platánról származó izolátumok

Pl6 (BN2B)	<i>Platanus x acerifolia</i>	Budapest	2013.	Karacs-Végh A.	☑	☑	X	X	☑	☑	☑	☑	X	☑
Pl7 (BN3Z)	<i>Platanus x acerifolia</i>	Zamárdi	2013.	Karacs-Végh A.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑
Pl8 (BN4B)	<i>Platanus x acerifolia</i>	Budapest	2013.	Karacs-Végh A.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑
Pl9 (BN5Ba)	<i>Platanus x acerifolia</i>	Bázakerettye	2013.	Karacs-Végh A.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑

☑: az elvégzett vizsgálatokat jelöli; X: az el nem végzett vizsgálatokat jelöli

Izolátum kódja	Gazdanövény	Származási hely	Gyűjtés ideje	Gyűjtötte	Gram teszt	HR	API 20E	Patogenitási teszt	Dió fertőzés	16S rRNS	atpD	gyrB	rpoB	infB
Pl10 (BN6S)	<i>Platanus x acerifolia</i>	Siófok	2013.	Karacs-Végh A.	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒
Pl11 (BN7B)	<i>Platanus x acerifolia</i>	Budapest	2013.	Karacs-Végh A.	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒
Pl1	<i>Platanus x acerifolia</i>	Budapest	2017.	Gyapay K.	☒	☒	X	☒	X	☒	X	X	X	X
Pl2	<i>Platanus x acerifolia</i>	Siófok	2016.	Gyapay K.	☒	☒	X	☒	X	☒	X	X	X	X
Pl3	<i>Platanus x acerifolia</i>	Balatonfüred	2016.	Gyapay K.	☒	☒	X	☒	X	☒	X	X	X	X
Pl4	<i>Platanus x acerifolia</i>	Budapest	2016.	Gyapay K.	☒	☒	X	☒	X	☒	X	X	X	X
Pl5	<i>Platanus x acerifolia</i>	Balatonfüred	2016.	Gyapay K.	☒	☒	X	☒	X	☒	X	X	X	X

Szilfáról származó izolátumok

Ulmus10 (Zsuzsa szil, BG1B)	<i>Ulmus</i> sp.	Budapest	2013.	Némethy Zs.	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	X	☒	☒
Ulmus1 (Szil1)	<i>Ulmus</i> sp.	Kecskemét	2014.	Karacs-Végh A.	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒
Ulmus2 (Szil2)	<i>Ulmus</i> sp.	Kecskemét	2014.	Karacs-Végh A.	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒

Izolátum kódja	Gazdanövény	Származási hely	Gyűjtés ideje	Gyűjtötte	Gram teszt	HR	API 20E	Patogenitási teszt	Dió fertőzés	16S rRNS	atpD	gyrB	rpoB	infB
Ulmus3 (Szil3)	<i>Ulmus</i> sp.	Kecskemét	2014.	Karacs-Végh A.	☑	☑	☑	☑	☑	X	☑	X	☑	☑
Ulmus4 (Szil4)	<i>Ulmus</i> sp.	Kecskemét	2014.	Karacs-Végh A.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑
Ulmus5 (Szil5)	<i>Ulmus</i> sp.	Kecskemét	2014.	Karacs-Végh A.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑
Ulmus6 (Szil6)	<i>Ulmus</i> sp.	Kecskemét	2014.	Karacs-Végh A.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑
Ulmus7 (Szil7)	<i>Ulmus</i> sp.	Kecskemét	2014.	Karacs-Végh A.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑
Ulmus8 (Szil8)	<i>Ulmus</i> sp.	Kecskemét	2014.	Karacs-Végh A.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑
Ulmus9 (Szil9)	<i>Ulmus</i> sp.	Kecskemét	2014.	Karacs-Végh A.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑	X	☑

Nyírfáról származó izolátumok

Bet2 (Betula2)	<i>Betula pendula</i>	Budapest	2014.	Karacs-Végh A.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	X	☑	☑	X
Bet1 (BetSzeK)	<i>Betula pendula</i>	Szentendre	2015.	Tenorio-Baigorría I.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	X	☑	☑	X
Bet4 (BLB1)	<i>Betula pendula</i>	Leányfalu	2015.	Tenorio-Baigorría I.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	X	☑	☑	X
Bet5 (Bja)	<i>Betula pendula</i>	Budapest	2016.	Galambos N.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	X	☑	☑	X

Izolátum kódja	Gazdanövény	Származási hely	Gyűjtés ideje	Gyűjtötte	Gram teszt	HR	API 20E	Patogenitási teszt	Dió fertőzés	16S rRNS	atpD	gyrB	rpoB	infB
Bet6 (BK1)	<i>Betula pendula</i>	Budapest	2016.	Galambos N.	☑	☑	☑	☑	☑	X	X	☑	☑	X
Bet7 (BK3)	<i>Betula pendula</i>	Budapest	2016.	Galambos N.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	X	☑	☑	X
Bet3 (Nyír3)	<i>Betula pendula</i>	Nyírdersz	2017.	Karacs-Végh A.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	X	X	X	X

Nyárfáról származó izolátum

Pop1 (BPP1B)	<i>Populus nigra</i>	Budapest	2015.	Karacs-Végh A.; Tenorio-Baigorria I.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	X	☑	☑	X
--------------	----------------------	----------	-------	--------------------------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Eperfáról származó izolátumok

Morus1	<i>Morus alba</i>	Budapest	2016.	Tenorio-Baigorria I.	☑	☑	X	☑	☑	☑	X	X	X	X
Morus2	<i>Morus alba</i>	Budapest	2017.	Tenorio-Baigorria I.	☑	☑	X	☑	☑	☑	X	X	X	X

Vadgesztenyefáról származó izolátumok

Aes1 (BpAes1)	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Budapest	2015.	Karacs-Végh A.; Tenorio-Baigorria I.	☑	☑	☑	☑	☑	☑	X	☑	☑	X
Aes4 (AesE)	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Ebes	2017.	Karacs-Végh A.	☑	☑	☑	☑	X	☑	X	X	X	X
Aes5 (AesM)	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Mátészalka	2017.	Karacs-Végh A.	☑	☑	☑	☑	X	☑	X	X	X	X

Izolátum kódja	Gazdanövény	Származási hely	Gyűjtés ideje	Gyűjtötte	Gram teszt	HR	API 20E	Patogenitási teszt	Dió fertőzés	16S rRNS	<i>atpD</i>	<i>gyrB</i>	<i>rpoB</i>	<i>infB</i>
Aes2 (BpAes2)	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Budapest	2018.	Karacs-Végh A.	☑	☑	☑	☑	X	☑	X	X	X	X
Aes3 (BpAes3)	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Budapest	2019.	Karacs-Végh A.	☑	☑	☑	☑	X	☑	X	X	X	X

3. SZÁMÚ MELLÉKLET: FILOGENETIKAI TÖRZSFÁHOZ FELHASZNÁLT IZOLÁTUMOK

ADATAI – 16S RRNS GÉNSZAKASZ

Baktériumfaj, és -alfaj	Törzs azonosítója	GenBank accession nr.	Gazdanövény	Származás
<i>Brenneria alni</i>	PVFi20 ^T	AJ233409	<i>Alnus cordata</i>	Olaszország
<i>Brenneria corticis</i>	gBX10-1-2 ^T	NR_171515	<i>Populus x euramericana</i>	Kína
<i>Brenneria bubanii</i>	4F2 ^T	MW431053	<i>Populus x euramericana</i>	Magyarország
<i>Brenneria bubanii</i>	Kf	MW431054	<i>Juglans regia</i>	Magyarország
<i>Brenneria goodwinii</i>	LMG 26270 ^T	JN544202	<i>Quercus robur</i>	Egyesült Királyság
	LMG 26272	JN544203	<i>Quercus sp.</i>	Egyesült Királyság
<i>Brenneria goodwinii</i>	Mf3-1	OP586670	<i>Acer campestre</i>	Magyarország
<i>Brenneria goodwinii</i>	Sz2	OP586675	<i>Quercus cerris</i>	Magyarország
<i>Brenneria goodwinii</i>	J1-1	OP586669	<i>Quercus robur</i>	Magyarország
<i>Brenneria izbisi</i>	KBI 423 ^T	MW485945	<i>Juglans regia</i>	Szerbia
<i>Brenneria izbisi</i>	KBI 429	MW485948	<i>Juglans regia</i>	Szerbia
	DSM 30175 ^T	ENU80203	<i>Juglans regia</i>	Amerikai Egyesült Államok
<i>Brenneria nigrifluens</i>	BNK1	MN822905	<i>Juglans regia</i>	Irán
	OR1	JX484738	<i>Juglans regia</i>	Szerbia
<i>Brenneria populi</i> Hauben et al. 1998b	NCPPB 4299 ^T	JX392892	<i>Populus x euramericana</i>	Kína
	YMAPO5	MN007189	<i>Populus nigra</i>	Irán
<i>Brenneria populi</i> Li et al. 2015	D9-5 ^T	KJ632518	<i>Populus x euramericana</i>	Kína
<i>Brenneria populi</i> subsp. <i>brevivirga</i>	D8-10-2-5 ^T	KX987135	<i>Populus x euramericana</i>	Kína
<i>Brenneria roseae</i> subsp. <i>americana</i>	FRB 223 ^T	KF308292	<i>Quercus kelloggii</i>	Amerikai Egyesült Államok
<i>Brenneria roseae</i> subsp. <i>roseae</i>	FRB 222 ^T	KF308291	<i>Quercus cerris</i>	Egyesült Királyság
<i>Brenneria roseae</i> subsp. <i>roseae</i>	P3-1-2	OP586672	<i>Quercus petraea</i>	Magyarország
<i>Brenneria rubrifaciens</i>	DSM 4483 ^T	AJ233418	<i>Juglans regia</i>	Amerikai Egyesült Államok
<i>Brenneria salicis</i>	LMG 2698 ^T	Z96097	<i>Salix alba</i>	Egyesült Királyság
<i>Brenneria tiliae</i>	WC1b.1 ^T	OM505019	<i>Tilia x moltkei</i>	Egyesült Királyság
	EX1z	OM505020	<i>Tilia x moltkei</i>	Egyesült Királyság
<i>Dickeya chrysanthemi</i>	LMG 2804 ^T	Z96093	<i>Chrysanthemum morifolium</i>	Amerikai Egyesült Államok
<i>Dickeya dadantii</i>	CFBP 1269 ^T	AF520707	<i>Pelargonium capitatum</i>	Comore-szigetek (Afrika)
<i>Dickeya dianthicola</i>	CFBP 1200 ^T	AF520708	<i>Dianthus caryophyllus</i>	Egyesült Királyság
<i>Lonsdalea britannica</i>	LMG 26267 ^T	JF311442	<i>Quercus robur</i>	Egyesült Királyság
<i>Lonsdalea iberica</i>	LMG 26264 ^T	JF311441	<i>Quercus ilex</i>	Spanyolország
<i>Lonsdalea populi</i>	NY060 ^T	JQ291575	<i>Populus x euramericana</i>	Magyarország
<i>Lonsdalea quercina</i>	LMG 2724 ^T	AJ223469	<i>Quercus sp.</i>	Amerikai Egyesült Államok
<i>Pectobacterium atrosepticum</i>	LMG 2386 ^T	Z96090	<i>Solanum tuberosum</i>	Egyesült Királyság
<i>Pectobacterium betavasculorum</i>	ATCC 43762 ^T	U80198	<i>Beta vulgaris</i> cv. <i>Saccharata</i>	Amerikai Egyesült Államok
<i>Pectobacterium wasabiae</i>	CFBP 3304 ^T	U80199	<i>Eutrema wasabi</i>	Japán
<i>Winslowiella arboricola</i>	BAC15a-03b ^T	OP422451	outgroup (<i>Platanus x hispanica</i>)	Egyesült Királyság
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	NCIMB9242	X60418	outgroup	Egyesült Királyság

4. SZÁMÚ MELLÉKLET: PÁRONKÉNTI ÖSSZEHASONLÍTÁS – 16S rRNS

[illegible][illegible]

**5. SZÁMÚ MELLÉKLET: FILOGENETIKAI TÖRZSFÁHOZ FELHASZNÁLT
IZOLÁTUMOK AZONOSÍTÓI ÉS NCBI GÉNANKI AZONOSÍTÓ SZÁMAI –
HÁZTARTÁSI GÉNEK**

Baktériumfaj, és -alfaj	Törzs azonosítója	GenBank Accession nr.			
		<i>atpD</i>	<i>gyrB</i>	<i>rpoB</i>	<i>infB</i>
<i>Brenneria alni</i>	PVFi20 ^T	JF311514	JF311627	JF311852	JF311740
	NCPPB 3935	JF311515	JF311628	JF311853	JF311741
<i>Brenneria goodwinii</i>	LMG 26270 ^T	JN544211	JN544220	JN544238	JN544229
	LMG 26272	JN544213	JN544222	JN544240	JN544231
<i>Brenneria izbisi</i>	KBI 423 ^T	ON228205	ON638964	ON638968	ON638960
	KBI 429	ON228204	ON638963	ON638967	ON638959
<i>Brenneria nigrifluens</i>	DSM 30175 ^T	JF311499	JF311612	JF311837	JF311725
	LMG 2696	JF311500	JF311613	JF311838	JF311726
<i>Brenneria populi</i> Li et al. 2015	D9-5 ^T	KJ672086	KJ672083	KJ672084	KJ672085
<i>Brenneria populi</i> subsp. <i>brevivirga</i>	D8-10-2-5 ^T	KX987139	KX987136	KX987137	KX987138
<i>Brenneria roseae</i> subsp. <i>americana</i>	FRB 223 ^T	KF308300	KF308310	KF308330	KF308320
	UsA 52b	KF308301	KF308311	KF308331	KF308321
<i>Brenneria roseae</i> subsp. <i>roseae</i>	FRB 222 ^T	KF308293	KF308303	KF308323	KF308313
	BH 1/40b	KF308296	KF308306	KF308326	KF308316
<i>Brenneria rubrifaciens</i>	DSM 4483 ^T	JF311504	JF311617	JF311842	JF311730
	LMG 2711	JF311505	JF311618	JF311843	JF311731
<i>Brenneria salicis</i>	LMG 2698 ^T	JF311509	JF311622	JF311847	JF311735
	LMG 2706	JF311511	JF311624	JF311849	JF311737
<i>Brenneria tiliae</i>	WC1b.1	OM523107	OM523122	OM523152	OM523137
<i>Dickeya chrysanthemi</i>	LMG 2804 ^T	JF311523	JF311636	JF311861	JF311749
	LMG 2490	JF311524	JF311637	JF311862	JF311750
<i>Dickeya dadantii</i>	LMG 25991 ^T	JF311531	JF311644	JF311869	JF311757
	BCC 1036	JF311534	JF311647	JF311872	JF311760
<i>Lonsdalea britannica</i>	LMG 26267 ^T	JF311553	JF311666	JF311891	JF311779
	LMG 6054	JF311559	JF311672	JF311897	JF311785

<i>Lonsdalea iberica</i>	LMG 26264 ^T	JF311552	JF311665	JF311890	JF311778
	LMG 26265	JF311549	JF311662	JF311887	JF311775
<i>Lonsdalea populi</i>	NY060 ^T	JQ291578	JQ291581	KC481243	JQ291584
	NY011	JQ291576	JQ291579	KF279544	JQ291582
<i>Lonsdalea quercina</i>	LMG 2724 ^T	JF311543	JF311656	JF311881	JF311769
	LMG 2725	JF311545	JF311658	JF311883	JF311771
<i>Pectobacterium betavasculorum</i>	LMG 2466 ^T	JF311480	JF311593	JF311819	JF311706
	LMG 2398	JF311481	JF311594	JF311820	JF311707
<i>Pectobacterium wasabiae</i>	LMG 8444 ^T	JF311495	JF311608	JF311833	JF311721
	ICMP 9123	JF311496	JF311609	JF311834	JF311722
<i>Winslowiella arboricola</i>	BAC15a-03b ^T	OP414924	OP414932	OP414948	OP414940

GÉNEK

Bremertia_ahu_NCPBPB_3995
Bremertia_ahu_PVE20
Bremertia_goodvilli_LMG_26270
Bremertia_goodvilli_LMG_26272
Bremertia_izobai_XBL_403
Bremertia_izobai_XBL_429
Bremertia_izobai_XBL_429
Bremertia_nigritellus_DSM_30175
Bremertia_nigritellus_LMG_2698
Bremertia_nigritellus_LMG_2698
Bremertia_populi_Li_et_al_2015_D9-5
Bremertia_populi_subsp_brevipinna_DS-10-2-5
Bremertia_populi_subsp_brevipinna_DS-10-2-5
Bremertia_nibrificans_DSM_4483
Bremertia_nibrificans_DSM_2711
Bremertia_salicis_LMG_2698
Bremertia_salicis_LMG_2706
Bremertia_thaia_WCIB.1
P7
P8
P9
P10
P11
Umas1
Umas2
Umas4
Umas5
Umas6
Umas7
Umas8

**7. SZÁMÚ MELLÉKLET: A *BRENNERIA* NEMZETSÉGBE TARTOZÓ KÓROKOZÓK
ÁLTALUNK MEGHATÁROZOTT GÉNSZAKASZAINAK GÉNBANKI AZONOSÍTÓ
SZÁMAI A GAZDANÖVÉNYEK MEGJELÖLÉSÉVEL**

Baktériumfaj	Izolátumok kódja	Génszakasz	GenBank Accession nr.	Gazdanövény
<i>Brenneria nigrifluens</i>	Bn-WalnutZa-Hun1 (Juglans1)	16S rRNS	HF936707	<i>Juglans regia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	PL7	16S rRNS	LN875278	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	PL8	16S rRNS	LN875279	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	PL9	16S rRNS	LN875280	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	PL10	16S rRNS	LN875281	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	PL11	16S rRNS	LN875282	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	PL7	<i>rpoB</i>	LN875289	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	PL8	<i>rpoB</i>	LN875290	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	PL9	<i>rpoB</i>	LN875291	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	PL10	<i>rpoB</i>	LN875292	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	PL11	<i>rpoB</i>	LN875293	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	PL7	<i>gyrB</i>	LN875283	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	PL8	<i>gyrB</i>	LN875284	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	PL9	<i>gyrB</i>	LN875285	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	PL10	<i>gyrB</i>	LN875286	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	PL11	<i>gyrB</i>	LN875287	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria salicis</i>	Bs-HuB1 (Salix1)	16S rRNS	HG518658	<i>Salix</i> sp.
<i>Brenneria</i> sp.	Sz1Bu (Ulmus1)	16S rRNS	LR735261	<i>Ulmus</i> sp.
<i>Brenneria</i> sp.	Sz2Bu (Ulmus2)	16S rRNS	LR735262	<i>Ulmus</i> sp.
<i>Brenneria</i> sp.	Sz4Bu (Ulmus4)	16S rRNS	LR735263	<i>Ulmus</i> sp.
<i>Brenneria</i> sp.	Sz5Bu (Ulmus5)	16S rRNS	LR735264	<i>Ulmus</i> sp.
<i>Brenneria</i> sp.	Sz6Bu (Ulmus6)	16S rRNS	LR735265	<i>Ulmus</i> sp.
<i>Brenneria populi</i> Hauben et al. 1998	BPP1B (Pop1)	16S rRNS	MG962536	<i>Populus nigra</i>
<i>Brenneria</i> sp.	Aes1	16S rRNS	MW662111	<i>Aesculus hippocastanum</i>
<i>Brenneria</i> sp.	Aes2	16S rRNS	MW662109	<i>Aesculus hippocastanum</i>
<i>Brenneria</i> sp.	Aes3	16S rRNS	MW662110	<i>Aesculus hippocastanum</i>
<i>Brenneria</i> sp.	Hu-Bn-Pl1 (Pl1)	16S rRNS	MG951474	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	Hu-Bn-Pl2 (Pl2)	16S rRNS	MG950413	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	Hu-Bn-Pl3 (Pl3)	16S rRNS	MG951472	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	Hu-Bn-Pl4 (Pl4)	16S rRNS	MG951475	<i>Platanus x acerifolia</i>
<i>Brenneria</i> sp.	Hu-Bn-Pl5 (Pl5)	16S rRNS	MG951473	<i>Platanus x acerifolia</i>

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt köszönettel tartozom konzulenseimnek, Dr. Karacs-Végh Anitának és Dr. Palkovics Lászlónak. Szeretném megköszönni Dr. Karacs-Végh Anitának, hogy elindított ezen az úton, megismertette és megszerettette velem a baktériumokat, és a velük kapcsolatos vizsgálati módszereket. Témavezetőmként elméleti és gyakorlati iránymutatást adott, tapasztalait, hasznos tanácsait megosztotta velem, bátorított és támogatott az évek során, valamint javaslataival hozzájárult a dolgozat átláthatóbbá tételéhez, elkészüléséhez. Köszönöm Dr. Palkovics Lászlónak, hogy lehetővé tette, hogy kutatásaimat a MATE Növényvédelmi Intézet, Növénykórtani Tanszékén elvégezhettem, és ehhez biztosította a szükséges feltételeket, továbbá segítette a dolgozat elkészültét.

Köszönöm a MATE Gyümölcsstermesztési Kutatóközpont Érdi Kutató Állomás munkatársainak, hogy biztosították a vizsgálatokhoz szükséges zöld diókat, illetve a Lantos Faiskolának és Dr. Csóka Györgynek, hogy rendelkezésünkre bocsájtották a patogenitási vizsgálatainkhoz a csemetéket. Továbbá köszönöm a HUN-REN ATK NÖVI munkatársainak, Salánki Katalinnak, Almási Asztériának és Sulyokné Schwarczinger Ildikónak, hogy vizsgálatainkhoz biztosították a dohány növényeket, a plazmidok klónozásához az *Escherichia coli* DH5 α törzs kompetens sejtjeit és a DNS kivonási módszert.

Köszönöm Dr. Bozsó Miklósnak és Bölcsics Károlynak a filogenetikai törzsfák elkészítésében nyújtott segítségüket.

Köszönöm Dr. Vétek Gábornak, Zsigó Györgynek, Dr. Némethy Zsuzsannának, hogy felhívták a figyelmünket a tüneteket mutató fásszárú növényekre, ezzel is gyarapítva a vizsgálatok tárgyát képező minták számát. Továbbá köszönet Zsigó Györgynek, hogy megosztotta a vadgesztenyefák injektálásával kapcsolatos tapasztalatait és fényképeit.

Köszönettel tartozom a hallgatóknak, Dr. Galambos Nikolettának, Márialigetiné Dávid Orsolyának, Borsos Gergőnek, Botyánszki Gergőnek, Gyapay Klárának és Jakab-Hadar Zsófiának, hogy munkájukkal hozzájárultak a vizsgálatok elvégzéséhez. Továbbá köszönet illeti Fodor Attilát a sok segítségért.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm családomnak a támogatást, hogy mellettem álltak a nehezebb időszakokban, Édesanyámnak köszönöm a sok-sok finom ebédet-vacsorát, amit főzött, mialatt próbáltam összeszedni a gondolataimat, és örömet, hogy befejezzem az írást. Köszönetet mondok minden barátomnak, akik szintén mellettem voltak, tanácsaikkal segítették munkámat, és lelki támaszt nyújtottak a disszertáció írása során.