

ÚJ BAKTERIÁLIS EREDETŰ KÉREGELHALÁS A NYEMESNYÁR ÁLLOMÁNYOKBAN

Koltay A.¹, Lakatos T.², Tóth T.²

¹NAIK Erdészeti Tudományos Intézet, Mátrafüred
²NAIK Gyümölcsstermesztési Kutatóintézet, Újfehértó

KIVONAT

A hazai nemes nyár állományokban 2007-ben, Szentkirály térségében észleltek először tömegesen jelentkező, folyásos, kéregelhalásos tüneteket. A vizsgálatok során egy új baktérium taxont sikerült azonosítani, amelyet Lonsdaleaquercinusubsp. populii néven írtunk le. A kórokozó által kiváltott tünetek, kéregrepedés, nyálkaafolyás, kéregelhalás, rendszerint június-július hónapokban jelennek meg. A tünetek szeptemberre teljesednek ki, majd később a folyások beszáradnak, az elhalt kéreg leválik. A baktériummal végzett mesterséges oltási kísérletek igazolták a kórokozó patogenitását, továbbá egyértelműen kiderült, hogy a vizsgált nemesnyár klónok eltérő mértékben fogékonyak a kórokozó fertőzésével szemben. A kórokozó elterjedésére vonatkozó felmérések eredményei szerint a baktérium már az egész országban megtalálható, bár a jellegzetes tünetek csak szórványosan jelennek meg az állományokban.

BEVEZETÉS

Az elmúlt években a Kecskemét – Szolnok-Cegléd által határolt területen dokumentálhatóan 2009-től, a gazdálkodók jelzése szerint 2007-től, a nemesnyár állományokban sajátos, a kéreg hosszanti felrepedésével és jellegzetes szagú folyással járó tünetek jelentek meg kora nyáron. Egyes állományokban jelentős mértékű fertőzés lépett fel, melynek eredményeként a károsodott fák aránya elérte a 70-80%-ot, bár átlagosan ez az érték 10-30% körül alakult. A vizsgált tünetek alapján egyértelműnek tűnt, hogy bakteriális fertőzés áll a jelenség háttérében. A tünetek kiterjedése és intenzitása, valamint a probléma újdonsága gyors vizsgálatot, feltárást igényelt. A kutató munka szűkös anyagi háttér biztosításával 2009-ben kezdődött. Ennek első lépéseként leírtuk a jellegzetes tüneteket, és azonosítottuk a baktériumot. A kórokozó azonosítását követően mesterséges oltási kísérleteket állítottunk be a kórokozó patogenitásának igazolása érdekében. Ezzel párhuzamosan felmértük az országos elterjedést, és az érintett gazdanövények körét.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A tünetek szisztematikus megfigyelését és leírását 2011-ben kezdtük Szentkirály, Nyársapát, Mikebuda, Törtel, Csemő és Albertirsa térségében. Az említett területeken jelentősebb fertőzések léptek fel a nemesnyár állományokban. A tünetek kialakulását és a betegség lefolyásának menetét havi rendszerességgel vizsgáltuk Szentkirály közelében kiválasztott 5 mintaterületen, állandósított mintafákon. A rendszeres időközönkénti vizsgálatok során rögzítettük a tünetek megjelenését, formáját, kiterjedését, a törzsön jelentkező elváltozásokat, jellegzetességeket.

Nyársapáton és Mikebudán a tünetes fákból kéreg és nyálkamintát gyűjtöttünk, melyeket a NAIK Gyümölcsstermesztési Kutatóintézetének Újfehértói Kutató Állomásán vizsgáltunk azzal a céllal, hogy meghatározzuk, milyen baktériumok fordulnak elő a tünetes kéregrészekben és ezek közül melyeknek lehet szerepe a fertőzések, jellegzetes tünetek kiváltásában.

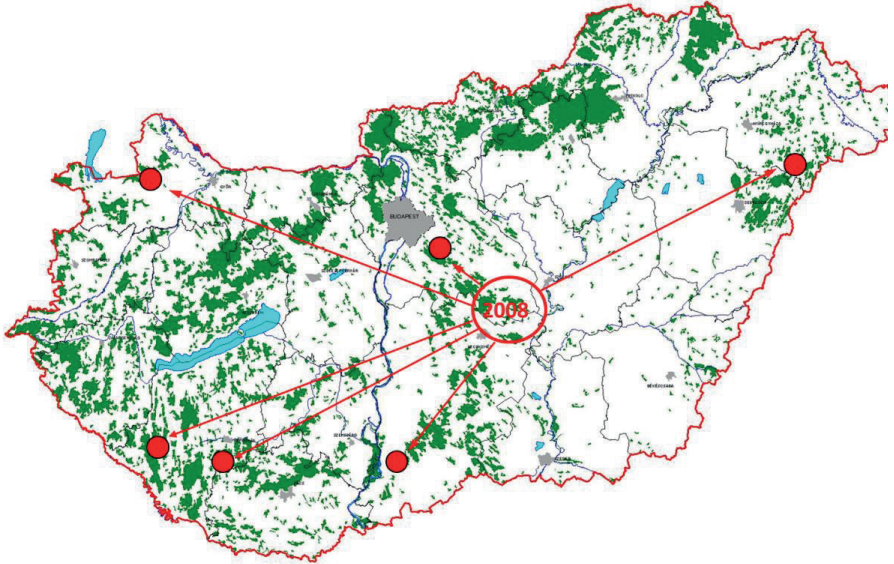
A laboratóriumi identifikációs vizsgálatok mellett kidolgoztunk egy speciális DNS alapú vizsgálati módszert, amelynek segítségével a tünetmentes fákból esetlegesen jelenlévő baktérium fajspecifikus DNS szakasza segítségével kimutatható a kórokozó. 2015-től a tünetmentes és tünetes fákból gyűjtött mintákat ezzel a módszerrel vizsgáltuk a fertőzöttség igazolása érdekében.

A bakteriális eredetű kéregelhalásos tünetek országos elterjedésének felmérését is elindítottuk. Ennek során az ország számos pontján felkerestünk különféle nemesnyár állományokat, amelyekben a területbejárások alkalmával vizuálisan vizsgáltuk a fákat, a jellegzetes friss és korábbi tüneteket keresve. E mellett a DNS alapú azonosításhoz randomszerűen vettünk mintát tünetes és tünetmentes fákból. A mintavételezés 0,5 mm átmérőjű „Pressler” fúróval történt, amelynek során mintegy 2 cm hosszú furatot vettünk a kérdéses fa kéregszövetéből.

A kéregelhalást kiváltó baktérium tiszta tenyészetével provokációs fertőzési kísérleteket állítottunk be. A kísérlethez hat nyárklón, *Agathe-F*, *Pannónia*, *Kopecky*, *Raspalje*, *Koltay*, *I-214*, kétéves gyökeres dugványait alkalmaztuk. Klónonként hat kezelés történt, ezek közül négy a *Lonsdaleaquercinasubsp. populi* patogén baktériumkülönböző izolátumaival (az NY041 és NY060T magyar, míg az N-5-1 és a HZ1031 kínai), valamint egy nem patogén baktériummal (*Stenotrophomonas*), ill. a kontroll steril deszt. vízzel. Ismétlésszám 3 x 5 fa/kezelésenként, minden klónon, azaz 60 fa/klón fertőzve patogén baktériummal, összesen 90 fa/klón a teljes kísérlethez. A fertőzések alkalmával a kérgen ejtett sebzésbe 10 µl 10⁵CFU/ml koncentrációjú baktérium szuszpenziót juttattunk. Az oltásokat 2014. július 14.-én végeztük. A kiértékelés négyfokozatú fertőzési skála segítségével történt, ahol 0 = tünetmentes, 1 = nekrosis a sebzés szélein, 2 = a sebzés széleitől kiinduló, nagyobb felületű nekrosis, amely azonban nem terjed túl a sebzés hosszán, 3 = nagyfelületű nekrosis, szövetnedv folyás jelentkezik. A bonitálást július 25., augusztus 11., augusztus 26. és szeptember 15.-én végeztük.

EREDMÉNYEK

A bakteriális fertőzések tömeges megjelenése a Kecskemét – Szolnok – Albertirsa által határolt térségben jelentkezett először 2007-2008-ban. Az első jelzéseket Szentkirály térségéből kaptuk, ahol több fiatal, 5-6 éves *Koltay* nyár állományban 70-80%-os fertőzöttséget tapasztaltunk. Még ugyanebben az évben Nyársapát, Törtel és Mikebuda térségében ugyancsak *Koltay* nyár állományból is hasonló károsodást jeleztek. A vizsgálatok során megállapítottuk, hogy az erős fertőzések egyértelműen a *Lonsdaleaquercinasubsp. populib* baktérium fertőzése nyomán alakultak ki. A kórokozó országos elterjedésének vizsgálatát 2010-ben kezdtük. Kezdetben csak a vizuális tünetek alapján kerestük a fertőzött állományokat, majd a laboratóriumi identifikációs eljárás tökéletesítésével a kéregből vett furatok alapján is vizsgálni tudtuk a baktérium jelenlétét a tünetes és a tünetmentes fákból egyaránt. Az állományokban végzett vizsgálatok azt mutatták, hogy a baktérium leggyakrabban a *Koltay* nyárákon fordult elő, míg *Pannónia* és *Olasz* nyárákon jóval kisebb arányban. Más nyár klónon eddig nem találtunk fertőzéseket. Az elterjedés országos felmérései szerint a fertőzéssel leginkább érintett állományok továbbra is az ország középső részén vannak, ugyanakkor a baktériumos fertőzést azonosítottuk a Nyírségben, a Dél-Alföldön Hajós térségében, Nagyatád és Kaposvár környékén, valamint a Hansági nyárasokban is. (1. ábra) A több éve folyó vizsgálatok ugyanakkor arra is rámutattak, hogy a friss fertőzések aránya jelentősen csökkent. Az utóbbi években sehol nem észleltünk a kezdeti időszakhoz hasonló mértékű új fertőzéseket. A baktérium az irodalmi adatok szerint eddig mindössze három országban, Spanyolország északi részén valamint Kínában és hazánkban tűnt fel közel azonos időben a 2000-es évek második felében. A három országból származó tenyészetek összehasonlítása alapján egyértelműen beigazolódott, hogy ugyanazon faj jelent meg mindhárom területen. (YongLi et al. 2017)



1. ábra: 2016-ra az ország különböző részein is azonosítottuk a baktériumot

A tünetek rendszerint a nyár elején a fák törzsén, különböző magasságból kiindulva jelennek meg. A vékonyabb, sima kérgen fehér, habos nyálkafolyás indul meg. A folyás alatt a szövetek elhalnak, feloldódnak, fehér erjedő masszává válnak, amely rendkívül rossz szagot áraszt. A kéreg ezeken a helyeken lilás, barnás, fekete színűre változik és felhólyagosodik, később felfeslik. A folyás akár több méter hosszan jelentkezhet. A vastagabb kéregrészekben a fertőzés nyomán a kéreg felnyílik, majd a folyás mentén megbarnul, felfoszlik. A kezdeti tünetek nagyon hasonlóak a fagyrepedésekhez és az ezekből előtörő folyásos tünetekhez. Az ágcsonkókból is hasonló folyásos tünetek jelennek meg kora tavasszal, de ezek nem tévesztendőek össze a bakteriális fertőzéssel. Ősszel a nedvedzés megszűnik, az elhalt kéreg leválik és széles nyílt seb marad a helyén. A sérülés szegélye a következő évben behéged, kalluszosodik, de a seb nem záródik össze. A régebbi sérülések nagyon hasonlóak a mechanikai sérülések nyomán kialakult tünetekhez (2-5. ábra). A sérülésen keresztül megindul a törzs korhadása, degradációja, a faanyag értéktelenné válik. A megfertőzött fák a másodlagos kórokozók és károsítók megtelepedése miatt rendszerint néhány éven belül elpusztulnak.



2. ábra: Friss folyás kéreg

3. ábra: Érett folyás

4. ábra: Kiszáradt foszló

A kórokozó azonosítása 2011-ben megtörtént. A laboratóriumi vizsgálatok során megállapítottuk, hogy a mintákban megtalált számos baktérium közül a *Lonsdaleaquercina* fajhoz hasonló ám attól némileg különböző baktérium okozza a tüneteket. A több génszakasz szekvenciája alapján végzett filogenetikai elemzés, ill. a zsírsavösszetétel alapján a nyárból izolált baktérium egy önálló filogenetikai vonalat képvisel a *L. quercina* fajon belül, amelyet a DNS-DNS hibridizációs tesztek is megerősítettek, így a baktériumot önálló taxonként, *L. quercinasubsp. populi* néven írtuk le (Tóth és mtsai, 2012). Ezek alapján az újonnan leírt baktériumtaxont a nemesnyár állományokban megjelenő, kéregrepedéssel és folyással járó tünetek lényegi okozójának tekinthetjük.

Ezt megerősítendő a baktérium tiszta tenyészetével provokációs fertőzési kísérleteket végeztünk. Ennek célja egyrészt a baktérium patogenitásának igazolása, másrészt a különféle nemesnyár klónok fogékonyságának vizsgálata volt. Mindemellett a kezeléseket során lehetőség nyílt a baktériumfertőzés időbeni lefolyásának és jellegzetességeinek megfigyelésére is. A kísérletek során 6 különféle nyár klónt vizsgáltunk. A kezeléseket eredményeit a 1. táblázatban foglaltuk össze.

1.táblázat

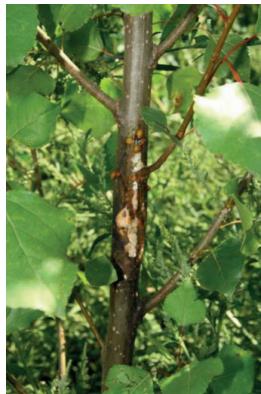
A patogén baktériumtörzsekkel fertőzött fák közül a súlyos fertőzési tüneteket mutató fák %-os aránya

dátum	Agathe-F	Pannónia	Kopeczky	Raspalje	Koltay	I-214
14/07/25	2	25	2	55	0	0
14/08/11	3	42	7	27	3	3
14/08/26	3	37	8	32	13	8
14/09/15	3	43	10	43	25	5

A kezelések egyértelműen igazolták a *L. quercinasubsp. populipatogenitását*. A baktérium képes fertőzni a fákat, és a fertőzések során kialakulnak a szabadföldi megfigyelések során észlelt jellegzetes tünetek. Az eredmények kiértékelése azt mutatta, hogy a különféle nyárklónok fertőzéssel szembeni fogékonyága jelentősen eltérő. A leginkább ellenálló az *Agathe-F* és az *I-214*, mérsékelten fogékony a *Koltay* és a *Kopeczky*, kifejezetten fogékony a *Pannónia* és a *Raspalje*. Ezek az adatok részben ellentmondanak a szabadföldi megfigyeléseknek, ahol a leggyakrabban fertőzött klón a *Koltay* volt, míg például a *Pannónia* nyárákon csak ritkán észleltünk fertőzéseket. A fertőzést követően a tünetek kialakulásának menete a különböző klónok esetén eltérőnek bizonyult, a *Pannónián* és a *Raspaljén* néhány nap alatt, míg a *Koltayn* és a *Kopeczyn* másfél-két hónap múlva jelentek meg a tünetek. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a „lappangó” fázis az egyes klónok esetében eltérő lehet(6-7. ábra).



5. ábra: Kalluszosodó korábbi sérülés.



6-7. ábra: A mesterséges fertőzéseket követően megjelentek a jellegzetes tünetek a csemetéken

KIÉRTÉKELÉS

A baktériumos nyár kéregfertőzések elterjedése országosnak mondható, ugyanakkor a felmérések eredményei alapján kitűnt, hogy a tünetes egyedek többsége továbbra is a fertőzés korábbi gócpontjaiban található, míg az ország többi részén a fertőzések száma és intenzitása jóval kisebb. A baktérium fertőzésének körülményeiről és a terjedés mikéntjéről csak feltételezéseink vannak. A fertőzés kialakulásához feltehetően kéregsérülés szükséges, amit alátámasztanak a provokációs fertőzéses kísérletek is. A sebzés nélkül kéregfelületre juttatott baktérium szuszpenzióval nem sikerült a tüneteket előidézni. Azt azonban továbbra sem tudni, hogy a baktérium vektora mi lehet. További vizsgálatot igényel a szaporítóanyag szerepe a fertőzés terjedésében. Elképzelhetőnek tartjuk, hogy a *Koltay* nyár szabadföldi körülmények között előforduló tömeges fertőzöttségében szerepet játszhatott az állomány létesítése során alkalmazott fertőzött csemete. Ennek azonban ellentmond az a tény, hogy a fertőzések tömeges megjelenése nem az ültetést követően, hanem több évvel később jelentkezett. Ugyanakkor az a tény, hogy a baktérium megtalálható a tünetmentes egyedekben is, magában hordozza a lehetőségét a tünetek későbbi megjelenésének. Elképzelhető, hogy az endofita módon jelen lévő baktérium a környezeti tényezők kedvezőtlen változása esetén felszaporodik, és tünetet okozva jelenik meg a kéreg felszínén. A jelenséget számos gombafaj esetében már igazolták. Ezt a feltevést lenne hivatott tisztázni egy szisztematikus felmérés a szaporítóanyag telepeken, ahol az új PCR azonosítási eljárást alkalmazva tünetmentes egyedekből is ki lehet mutatni a kórokozót. A környezeti hatások között nagy szerepe lehet a termőhelyi és időjárási tényezőknek. Ezek vizsgálatát is megkezdtük, amelyek eredményi még kiértékelés alatt vannak.

A betegség terjedésben a szaporítóanyag mellett minden bizonnyal nagy szerepe lehet a folyásokon táplálkozó rovaroknak, amelyek akár nagyobb távolságra is eljuttathatják a baktériumot. Ugyancsak vizsgálni kellene a nyesések szerepét a fertőzések továbbításában. A szállítószövetekben jelen lévő baktérium a nyeséshez használt szerszámokkal könnyedén átvihető egyik egyedről a másikra.

A kísérletek bizonyították, hogy a különféle nemesnyár klónok eltérő mértékben fogékonyak a baktérium fertőzésével szemben. A kísérletekben eddig 6 klónt vizsgáltunk, de a jövőben célszerű lenne további klónokat is bevonni a vizsgálatokba.

IRODALOM

- Tóth T.; Lakatos T.; Koltay A., 2013: *Lonsdaleaquercinasubsp. populisubsp. nov.*, isolated from bark canker of poplar trees. *International Journal for Systematic and Evolutionary Microbiology*, (2013) 63, 2309-2313. doi:10.1099/ijs.0.042911-0.
- Yong Li, Han Xue, Li-min Guo, András Koltay, Ana Palacio-Bielsa, Jupuchang, Shoujiang Xie, Xuqi Yang 2017: Elevation of three subspecies of *Lonsdaleaquercinato* species level: *Lonsdaleabritannicasp. nov.*, *Lonsdaleaibericasp. nov.* and *Lonsdaleapopulis. nov.*, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (IJSEM)*, 28. September 2017., doi: 10.1099/ijsem.0.002353. (<http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijsem.0.002353#tab2>)