



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Budai Campus

Növényorvos Mesterképzés

A kőrisrák megfigyelése hazánkban

Belső konzulens: dr. Karacs-Végh Anita

Fodor Attila

Készítette: Kiss-Vincze Gergely

CMAZFS

nappali tagozat

Intézet/Tanszék:

- **Növényvédelmi Intézet**
- **Növénykórtani Tanszék (Budapest)**

Budapest

2024

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és célkitűzés	4
2. Irodalmi áttekintés	5
2.1. Kőris fajok jellemzése	5
2.1.1. Kőris fajok rendszerezése és botanikai jellemzése	5
2.1.2. Kőris fajok elterjedése hazánkban	11
2.1.3. Kőris hazai jelentősége	12
2.2. A kőris kórokozói	14
2.3. <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>fraxini</i> jellemzése	18
2.3.1. A kórokozó eredete, előfordulása	18
2.3.2. A betegség tünetei	19
2.3.3. Védekezés, megelőzés	20
3. Anyag és módszerek	22
3.1. A vizsgálat helye és ideje	22
3.2. A vizsgálat anyag	22
3.2.1. Izolátumok	22
3.2.2. Baktériumok fenntartása, tenyésztése, táptalajok	22
3.2.3. Növényanyag	23
3.2.4. Felhasznált eszközök	23
3.3. A vizsgálat módszere	23
3.3.1. Kórokozó izolálása, tenyésztése	23
3.3.2. A baktérium szuszpenzió előállítása	23
3.4. A kórokozó azonosításának klasszikus módszerei	24
3.4.1. Gram tulajdonság	24
3.4.2. LOPAT teszt	24
3.4.3. Biokémiai tulajdonságok vizsgálata	25
3.4.4. Tumorképzés vizsgálata	25
3.4.5. Patogenitási teszt	25
3.5. A kórokozó azonosításának molekuláris módszere	25
3.5.1. Polimeráz-lánreakció (PCR)	25
3.5.2. Gélelektroforézis	26

3.5.3. PCR termék tisztítás és szekvencianalízis	26
4. Eredmények és értékelésük	27
4.1. A körisrák tüneteinek megfigyelése	27
4.2. Kórokozó izolálása, tenyésztése	28
4.3. A kórokozók azonosítása klasszikus módszerekkel	28
4.3.1. A tenyészbélyegek megállapítása	28
4.3.2. A Gram tulajdonság	29
4.3.3. LOPAT teszt	29
4.3.4. A kórokozó biokémiai jellemzői.....	30
4.3.5. Tumorképzés vizsgálata.....	31
4.3.6. Patogenitási teszt.....	31
4.4. A kórokozó azonosítása molekuláris módszerekkel.....	32
5. Következtetések	35
6. Összefoglalás.....	38
7. Köszönetnyilvánítás	40
8. Irodalomjegyzék.....	41
8.1. Nyomtatott források.....	41
8.1. Internetes források	46
9. Mellékletek.....	49

1. Bevezetés és célkitűzés

A kőrisfák a magyarországi erdőtársulásokban és városi környezetben is fontos szerepet töltenek be. A hazai összes erdőterület 4%-át alkotják, míg Budapesten több, mint 10.000 kőrisfa ékesíti a parkokat, útsorokat, közösségi tereket. A *Fraxinus* nemzetség 8 faja fordul elő hazánkban, mely közül három faj őshonos: a magas kőris (*Fraxinus excelsior*), a magyar kőris (*F. angustifolia* subsp. *pannonica*) és a virágos kőris (*Fraxinus ornus*). Ezek közül talán a legnagyobb egyedszámmal a magas kőris fordul elő, melyben nagy szerepe van annak, hogy magas a várostűrése. Vidék, -és városfejlesztési szempontok mellett igen értékes a kőrisek faanyaga is, melyet a faipar széles körben alkalmaz különféle sporteszközök és bútorok gyártására.

A kőrisfáknak számos kórokozója ismert. Az egyik legsúlyosabb kárt a kőrisrontó nyelescsészegomba (*Hymenoscyphus fraxineus*) okozza, mely gyors terjedésével és a fák hajtáselhalásával, elpusztításával felfoghatatlan ökológiai következményekkel járhat. Azonban ki kell emelnünk a kőrisrákot okozó *Pseudomonas savastanoi* pv. *fraxini* baktériumot is, mely súlyosan befolyásolhatja a fák egészségi állapotát és élettartamát is. A kórokozó rákos sebeket, tumorokat okoz az ágakon és a törzsön, melyek a szállítószövet elhalását okozhatják, és megakadályozhatják a tápanyag és a víz áramlását. Emellett a fertőzés előrehaladtával a törzsön repedések is kialakulnak, melyek utat nyitnak a fakultatív parazita és szaprofita szervezetek számára is. Így a fertőzés gyakran vezet az érintett fák pusztulásához, amely tovább súlyosbítja az erdők állapotát, csökkenti a kőrisfák ökoszisztémában betöltött szerepét, és veszélyt jelenthet városi környezetben.

Munkánk során célul tűztük ki hazánkban városi útsorfákon a kőrisrák kórokozójának, a *Pseudomonas savastanoi* pv. *fraxini* kórokozó megfigyelését, elterjedésének és kísérőtüneteinek részletes felmérését, a baktériumfaj izolálását és azonosítását klasszikus (tenyészbélyeg King-B táptalajon, Gram-tulajdonság, LOPAT, biokémiai tulajdonságok, patogenitási teszt) és molekuláris (16S rDNS, *syrB*, *syrD*) módszerekkel. Ezen vizsgálatok elvégzése részletesebb betekintést nyújt a kórokozó tüneteinek feltérképezésébe, biológiájába és gyarapítja ismereteinket a hazai populációról. Az eredmények alapvető fontosságúak a hazai kőrispopulációk védelme és a fenntartható erdőgazdálkodási tevékenységek továbbfejlesztése szempontjából.

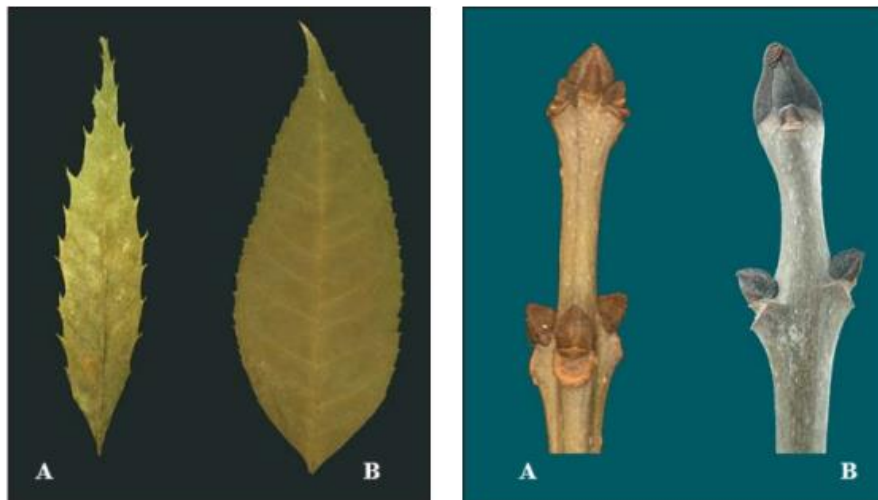
2. Irodalmi áttekintés

2.1. Kőris fajok jellemzése

2.1.1. Kőris fajok rendszerezése és botanikai jellemzése

A *Fraxinus* nemzetség az ajakosvirágúak (*Lamiales*) rendjébe, azon belül az olajfafélék (*Oleaceae*) családjába tartozik. A nemzetség 8 faja fordul elő hazánkban, mely közül három őshonos: a magas kőris (*Fraxinus excelsior*), a magyar kőris (*F. angustifolia* subsp. *pannonica*) és a virágos kőris (*Fraxinus ornus*), valamint az amerikai kőris (*Fraxinus pennsylvanica*) (Internet1), a keskenylevelű kőris (*Fraxinus angustifolia*), a fehér kőris (*Fraxinus americana*), az északi vörös kőris (*Fraxinus pennsylvanica* var. *austini*) és a zöld kőris (*Fraxinus pennsylvanica* var. *subintegerrima*) is.

A kőrisfákra morfológiai szempontból elmondható, hogy gyökere a talaj felszínén terjedelmes, kérge fiatalabb korban sokáig sima, szürkés árnyalatú, idősebb korban sötétebb, rücskösen repedezetté válik. Rügye sötét színű, rövid, hegyes kúp alakú, hajtása hengeres, világos paraszemölcsökkel tarkított (1. ábra). Levele páratlanul szárnyasan összetett, 5-15 darab fűrészelt, vagy fogazott szélű, a csúcslevél általában nagyobb, mint a többi. Virágai bugát képeznek, lombfakadás előtt áprilisban virítanak, rendszerint kétivarúak, de gyakran kéklakiak vagy felemásak, fehér színűek. Termése októberben érik, tavasszal hullik, csomóban csüngő szárnyas lependék (Bartha, 2006).



1. ábra: Magas (A) és magyar (B) kőris levélkéje, rügye és vesszője (Bartha, 2006)

A **magas kőris** (*Fraxinus excelsior*) származását illetően Európában elterjedt. Alakját tekintve egy elsőrendű fáról beszélhetünk, mely akár 40 méter magasra is megnőhet (2. ábra), karógyökérrel rendelkezik, amely a fa növekedésével gazdagon szerte ágazóvá válik (Internet2). Kérge eleinte sima, világoszöld színű, idővel szürkés-barnás, repedezett textúrájú, rügye kúp alakú, fekete színű. Levele 20-30 cm hosszú, mely 9-13 db levélkéből áll, amik hossza 6-10 cm közötti, szélessége 2-4 cm (Bartha, 2006). A levélkék alakja lándzsaszerű, enyhén fűrészelt széllel. Bugavirágzata kétlaki, termése csomókban csüngő szárnyas lependék. Fája tömör, kemény, amit gyakran sporteszközök és szerszámok készítésénél használnak (Internet2).



2. ábra: Magas kőris (*Fraxinus excelsior*) (Internet3)

A **magyar kőris** (*Fraxinus angustifolia* subsp. *pannonica*) a Kárpát-medencéből származó elsőrendű fa, 25-35 méter magasságú (3. ábra). Gyökere mélyre hatoló, kérge sima, világoszöld, majd szürke és repedezett. Rügyei tompa kúp alakúak, sötétbarna vagy vöröses színűek. Levelei 15-25 cm hosszúak, lándzsa alakúak fűrészelt széllel, 7-11 db levélkéből állnak, melyek 5-8 cm hosszúak és 1-2,5 cm szélesek. Virágzata egyszerű fürt, termései szárnyas lependék. Lombkoronája laza, szerteágazó, fája rugalmas és kemény, amit bútór- és hangszerkészítésnél használnak fel (Bartha, 2006).



3. ábra: Magyar kőris (*Fraxinus angustifolia* subsp. *pannonica*) (Internet4)

Az **amerikai kőris** (*Fraxinus pennsylvanica*) Észak-Amerikából származó másodrendű fa, 12-25 méter magas, széles koronával (4. ábra). Gyökere karógyökér, de terjedelmes szívgyökérzetet is fejleszt (Internet5). Kérge hamar repedezik, héjkérge barna színű. Rügyei gömbölydedek, rozsdabarna vagy barna színűek. Levelei 20-25 cm hosszúak, tojásdad vagy lándzsás tojásdad alakúak, fűrészelt széllel. 7-9 db levélkéből állnak, melyek 7-10 cm hosszúak és 3-5 cm szélesek. Virágzata buga, kétlaki, termései szárnyas lependék. Lombkoronája laza, fája tömör és kemény, használatát bútór- és sporteszközök készítésére találják megfelelőnek (Bartha és Csiszár, 2021).



4. ábra: Amerikai kőris (*Fraxinus pennsylvanica*) ősszel (Internet6)

A **virágos kőris** (*Fraxinus ornus*) Közép- és dél-Európából származó másod- vagy harmadrendű fa, legfeljebb 10 méter magasságig növekedhet (5. ábra). Gyökere a talaj felszínén terjedelmes. Kérge sötétszürke, későn rücskösen repedezik (Internet7). Rügyei hegyesek, ezüstszürkék. Levelei 15-25 cm hosszúak, tojásdad vagy kihegyezett tojásdad alakúak, fűrészelt széllel. 5-7 db levélkéből állnak, melyek 3-12 cm hosszúak és 3-5 cm szélesek. Virágzata buga, kétlaki, termései szárnyas lependék. Lombkoronája laza, ellaposodó, fája finomabb szövetű, és a kisebb mérete miatt jelentéktelen felhasználású (Bartha, 2018).



5. ábra: Virágos kőris (*Fraxinus ornus*) (Internet8)

A **keskenylevelű kőris** (*Fraxinus angustifolia*) Spanyolországtól Iránig elterjedt főként a mediterrán területeken. Magyarországon nem őshonos. Magassága 15-25 m közötti (6. ábra). A télirügyek sötétbarnák, finoman szőrösek. A hajtásai kopaszok. 12-25 cm-es levelei 7-13 levélkéjűek, melyek 3-7 cm hosszúak, lándzsásak vagy keskeny lándzsásak, élesen fogazottak, kihegyezett csúcsúak, ékvállúak, felül sötét-, alul világosabb zöldek (Gencsi és Vancsura, 1992). Szirom nélküli virágai kis fürtben áprilisban nyílnak. Hosszúkás elliptikus vagy lándzsás, lekerekített csúcsú lependéktermése 2-4 cm hosszú. Normál talajba, napos helyre való, nem igényes, ezen tulajdonságaiból adódóan sorfának, parkfának alkalmas (Tóth, 2012).



6. ábra: Keskenylevelű kőris (*Fraxinus angustifolia*) (Internet9)

A **fehér kőris** (*Fraxinus americana*) hazája Észak-Amerika, továbbá Kanada Ontario és Quebec tartományok déli részéig megtalálható. Amerikában a legértékesebb kőrisfajnak tartják. Nagytermetű fa, felálló ágakkal és kúpos tojásdad koronával. Hajtásai sárgás- vagy vörösesbarnák, fényesek, rügyei sötétbarnák. Levelei 7 levélkéjűek, levélkéi viszonylag nagyok (10-15 cm hosszú), tojásdadok vagy hosszúkás tojásdadok, kihegyesedő csúcsúak, ép szélűek vagy sekélyen, nyújtottan fűrészesek. Levelei ősszel vörössárgára színeződnek (7. ábra). Virágai kétlakiak, a termős virágoknak hosszú, nyúlánk bibeszála van (Tóth, 2012). Termései hosszú kocsányúak, laza bugákban fejlődnek. Az üde termőhelyek, árterek és védett völgyek fafaja. Könnyen kereszteződik más amerikai fajokkal, így Közép- Európában a tipikus *Fraxinus americana* alig fordul elő. Parkokban, zöldövezetekben szép, szabályos termete miatt kedvelik (Gencsi és Vancsura, 1992).



7. ábra: Fehér kőris (*Fraxinus americana*) (Internet10)

Az északi vörös kőris (*Fraxinus pennsylvanica* var. *austini*) elterjedési területe elsősorban Kanadára korlátozódik, főleg Dél-Ontarió és a Winnipeg-tó völgyéig terjedő területekre. A fa jellemzője, hogy vékony hajtásai vannak, melyek a levélgerinc mentén szőrösek. A levélkéi szűkebbek, tojásdad-lándzsás formájúak. Napfényben nevelkedett levelei fogazottak, aljukon hosszabb és ritkább szőrrel borítottak, mint más *Fraxinus* spp. Ősszel a levelek sárgára változnak és korán lehullanak (8. ábra). Terméseik dús bugákban nőnek, rövidek (2,5-3,5 cm hosszúak) és viszonylag széles szárnyakkal, melyek a makk csúcsáig érnek (Gencsi és Vancsura, 1992).



8. ábra: Északi vörös kőris (*Fraxinus pennsylvanica* var. *austini*) (Internet11)

A zöld kőris (*Fraxinus pennsylvanica* var. *subintegerrima*) elsősorban Dél-Kanada kontinentális prérítérségében honos Alberta tartományig terjedően. Hajtásai és levélgerincei kopaszok, levélkéi inkább tojásdad alakúak és a végálló levélke nagy. Színük élénkzöld, felületük fényes, és gyéren fűrészes szélűek. Ősszel a levelek sárgára vagy sárgásbarnára váltanak, és később hullanak le, mint az előző faj esetében (9. ábra). Termései laza bugákban fejlődnek, a szárnyak hosszúak és alapjuk felé fokozatosan keskenyednek, legalább a makk közepéig érnek (Gencsi és Vancsura 1992). Az egyes fajokra jellemző morfológiai bélyegeket az 1. táblázat mutatja be.



9. ábra: Zöld kőris (*Fraxinus pennsylvanica* var. *subintegerrima*) (Internet12)

Fajta neve	Magas kőris	Magyar kőris	Amerikai kőris	Virágos kőris	Keskenylevelű kőris	Fehér kőris	Északi vörös kőris	Zöld kőris
Tudományos név	<i>F. excelsior</i>	<i>F. angustifolia</i> <i>supsp. pannonica</i>	<i>F. pennsylvanica</i>	<i>F. ornus</i>	<i>F. angustifolia</i>	<i>F. americana</i>	<i>F. pennsylvanica</i> <i>var. austini</i>	<i>F. pennsylvanica</i> var. <i>subintegerrima</i>
Származása	Európa	Kárpát-medence	Észak-Amerika	Közép/Dél-Európa	Dél-Európa, Nyugat-Ázsia	Észak-Amerika	Kanada, Dél- Ontario	Kontinentális préri térsg, Kanada
Alak	Elsőrendű	Elsőrendű	Másodrendű, széles korona	Másod/harmadrendű	Elsőrendű, karcsú	Elsőrendű, terebélyes	Másodrendű, széles korona	Másod/harmadrendű, tág korona
Maximális magasság	40m	25-35m	12-25m	<10m	20-30m	20-40m	12-25m	<15m
Gyökér	Karógyökér, gazdagon elágazó	Mélyre hatoló	Karógyökér, terjedelmes szívgyökérzet	Talaj felszínén terjedelmes	Mélyre hatoló, gazdagon elágazó	Karógyökér, erősen elágazó	Karógyökér, terjedelmes	Mély, terjedelmes
Kéreg	Sima, világoszöld, majd szürke/barnás, repedezett	Sima, világoszöld, majd szürke/barnás, repedezett	Hamar repedezik, barna héjkéreg	Sötétszürke, rücskösen repedezik	Sima, világos szürke	Hamar repedezik, világos szürke	Repedezett, barna	Sima, sötétzöld, majd barnás
Rügy alakja, színe	Kúp, fekete	Tompa, sötétbarna/vöröses	Gömbölyded, rozsdabarna/barna	Hegyes, ezüstszerű	Kúp, sötétbarna	Gömbölyded, világosszürke	Hegyes, rozsdabarna	Tompa, világoszöld
Levélhossz	20-30 cm	15-25 cm	20-25 cm	15-25 cm	15-25 cm	20-30 cm	20-25 cm	15-25 cm
Levélke szélesség	2-4 cm	1-2,5 cm	3-5 cm	3-5 cm	1-3 cm	2-4 cm	3-5 cm	2-4 cm
Levélkék száma	9-13 db	7-11 db	7-9 db	5-7 db	7-13 db	5-9 db	7-9 db	5-7 db
Levélkék hossza	6-10 cm	5-8 cm	7-10 cm	3-12 cm	4-9 cm	5-12 cm	7-10 cm	4-8 cm
Levél alak	Lándzsa, enyhén fűrészt szél	Lándzsa, fűrészt szél	Tojásdad/lándzsás tojásdad, fűrészt szél	Tojásdad/kihegyezett, fűrészt szél	Keskeny, hosszú, enyhén fűrészt	Lándzsa, finoman fűrészt	Tojásdad, fűrészt szél	Tojásdad, enyhén fűrészt
Virág	Buga, kétivarú/kétlaki	Egyszerű fűrt	Buga, kétlaki	Buga, kétlaki	Egyszerű fűrt	Kétlaki, hosszú bibeszál	Kétlaki	Kétlaki
Termés	Szárnyas lependék	Szárnyas lependék	Szárnyas lependék	Szárnyas lependék	Szárnyas lependék	Szárnyas lependék	Szárnyas lependék	Szárnyas lependék
Faanyag	Tömör, kemény	Rugalmas, kemény	Tömör, kemény	Finomabb szövetű	Rugalmas, kemény	Tömör, kemény	Kemény, tartós	Finomabb szövetű
Felhasználás	Szerszámfa, sporteszköz	Bútor, -hangszer	Bútor, -sporteszköz	Kisebb mérete miatt jelentéktelen	Bútor, hangszer	Építőipar, bútorgyártás	Bútor, sporteszköz	Kisebb mérete miatt jelentéktelen

1. táblázat: Hazai kőris fajok morfológiai jellemzői (Bartha, 2006; Bartha, 2018; Bartha és Csiszár, 2021; Internet13; Internet14, Internet15; Internet16).

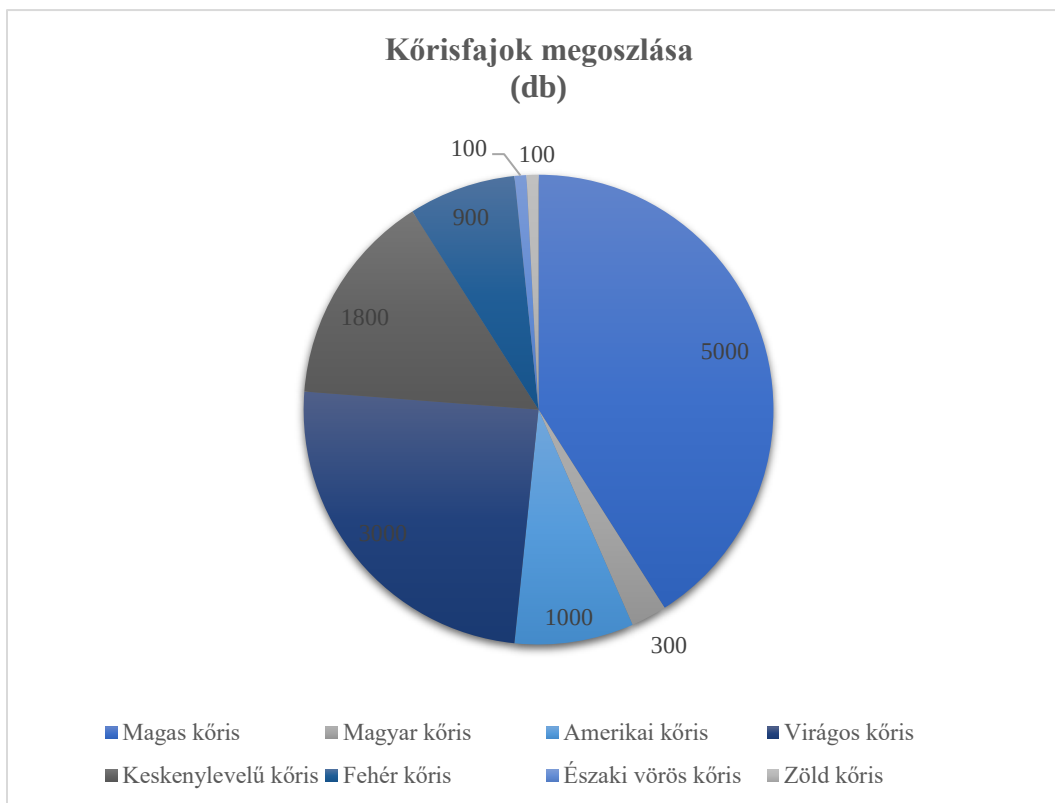
2.1.2. Kőris fajok elterjedése hazánkban

A magas kőris Magyarország egész területén, a magyar kőris a Dunántúl és Dél-Alföld, a virágos kőris a Dunántúl, míg az amerikai kőris Dél-Magyarország és a Dél-Alföld területén van jelen (Internet1). Az első három faj őshonos, az amerikai kőris azonban invazív faj (Csóka *et al.*, 2019). Emellett két a keskenylevelű kőris, a fehér kőris, az északi vörös kőris és a zöld kőris elszórtan fordul elő hazánkban.

A sík vidékeken általában a magyar kőris gyakori. Azonban a Szigetköz területén a magas kőris található nagyobb állományban, és a magyar kőris csak szórványosan fordul elő. Más alföldi területeken a magas kőris valószínűleg mesterséges telepítések során terjedt el. A tölgy-kőris-szil ártéri ligeterdőkben található meg állományalkotóként, de megjelenik fűz-nyár társulásával is a ligeterdők magasabb térszínein is, mivel a kocsányos tölgyhöz képest jobban tűri az elöntéseket. Gyakran előfordul még az alföldi égerlápok alkotóelemeként, ahol a mézgás éger szerepét helyettesíti, és akár úgynevezett „kőrislápokat” is kialakíthat (Internet13).

Városainkat és vidéki településeinket gyakran útfasorként díszíti a járdák, kerékpár- és autópályák mentén. Így zöldebb, természetközelebbi környezet nyújt, amellyel nagymértékben hozzájárul az urbanizált környezet hőmérsékletingadozásának mérséklésében. Népszerű választás fatelepítésnél, ugyanis kevésbé fogékony a károsítókra, gyorsan növvő, és akár 200 évig élő fafaj. Hazánk egyik, talán legidősebb kőrisfasora Csáfordjánosfán található, mely már immár kb. 140 éve díszíti a környéket (Internet16).

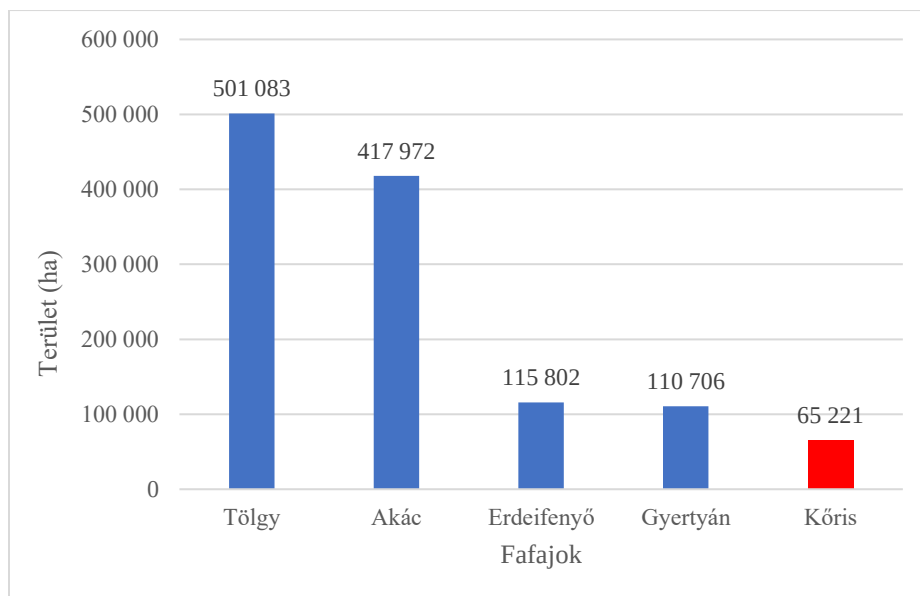
Budapesten több, mint 10.000 kőrisfa ékesíti a várost, melyből a magas kőris teszi ki a legnagyobb részét (kb. 5.000 db). A virágos kőris a második legnépszerűbb választás, megközelítőleg 3000 darabot ültettek belőle, míg az amerikai kőris a harmadik vezető fajta, körülbelül 1000 darabbal. Érdekes, de a magyar kőrist választották a legkevésbé, nem örvend nagy népszerűségnek, (Internet15) feltételezhetően a többi kőrisfajhoz képest lassabb növekedése, vagy akár betegségekre fogékonyabb tulajdonságai miatt (10. ábra).



10. ábra: Kőrisfajok megoszlása Budapesten (Internet15 alapján)

2.1.3. Kőris hazai jelentősége

Magyarországon a kőris több szempontból jelentős növény. Fontos szerepet tölt be erdészeti, széleskörű faipari, vidék, -és városfejlesztési szempontból, továbbá értékes tűzifaként is szolgál magas fűtőértéke miatt. Az összes erdőterületből közel 76 ezer (75.946) hektár területet tesz ki, ez az összes erdőterület 4%-át jelenti (Internet16) (11. ábra). A kőris anyaga igen erős, ugyanakkor rugalmas. Ezen tulajdonságok miatt íjak, gitárok, bútorok, különböző sportszerek, farostlemez és szerszámok elemeiként is hasznosíthatják. A legjobb minőségű kőrisfát hoki- és teniszütőnek dolgozzák fel. Nagy teherbírása miatt fejsze-, jégcsákány- és kalapácsnyeleket is gyártanak belőle. Rugalmassága és nagy hajlítószilárdsága alkalmassá teszi csónakok, kenuk, valamint bútorok előállítására is. Azonban vetemedésre hajlamos, így mestergerendaként vagy nagyobb súlyt tartó vázként nem gyakran alkalmazzák (Internet1) (12. ábra).



11. ábra: Az összes erdőterületen található fafajcsoportok területi megoszlása hektárban
(internet16)



12. ábra: Kőrisfából készült termékek (Kiss-Vincze, 2024)

2.2. A kőris kórokozói

A kőrisfáknak számos kórokozója ismert. Az egyik legsúlyosabb kárt a kőrisrontó nyelescsészegomba (*Hymenoscyphus fraxineus*) okozza. Ökológiai szempontból felfoghatatlan következményekkel járhat, megváltoztathatja a tájat és az ökoszisztémát (Internet17).

Csak néhány vírust jelentettek kőrisfajokat fertőző ágensként. Eddig csak szélsőségesen polifág fajok, az *Arabis mozaic virus* (AMV), a *Cherry-leafroll virus* (CLV), a *Tomato ringspot virus* (ToRSV), a *Tobacco ringspot virus* (TRSV), a *Tobacco necrosis virus* (TNV), a *Tobacco mosaic virus* (TMV), és a *White ash mosaic virus* (WAMV) (Gaskin *et al.*, 2021) kerültek kimutatásra. Leggyakrabban a *Fraxinus mozaic virus* (FMV) fordul elő, mely tünetei a levelek sárgulása, mozaikos mintázata és deformációja (13. ábra). Ennek következtében csökken a fák fotoszintézise, amely növekedési problémákhoz vezethet és növeli az esélyét számos egyéb kórokozó megjelenésének (Lal *et al.*, 2021).



13. ábra: *Fraxinus mozaic virus* (Internet18)

A fitoplazmákhoz tartozó *Candidatus Phytoplasma fraxini* kórokozó által okozott betegséget a kőris sárgulásnak nevezik. Tünetei a levelek sárgás elszíneződése, vagy rendellenes fejlődése, torzulása, seprűsödése (14. ábra) (Hu és Schalau, 2021). Ezzel együtt jár a lombhullás, ami gyenge növekedést von maga után. Gyakori a kabócák megjelenése egyidőben a betegséggel, melyek vektorként terjesztik a kórokozót. Károsítása akár a fa pusztulásához is vezethet (Internet19).



14. ábra: *Candidatus Phytoplasma fraxini* okozta tünetek (Internet20)

Érdekesség, hogy a Kolumbiában termesztett burgonyaültvényeken hasonló tünetekre lettek figyelmesek a helyi termelők. A fertőzött növényi részekről izolált kórokozó a *Candidatus Phytoplasma fraxini*-vel 99,8%-os egyezést mutatott. Burgonya mellett (*Solanum*

tuberosum) Bogota és környékén ismert a kórokozó kártétele a trópusi kőrisen (*Fraxinus uhdei*), amerikai ábrafán (*Liquidambar styraciflua*), fekete nyáron (*Populus nigra*), és a kolumbiai tölgyön (*Quercus humboldtii*) is (Varela-Correa és Franco-Lara, 2020).

A baktériumok közé tartozó *Xanthomonas campestris* pv. *fuscans* is megbetegítheti a kőris fajokat. Tünetei között megjelennek a levélen barna foltok, melyek a fertőzés előrehaladtával megfeketednek, elhalnak, később levélhulláshoz vezetnek (15. ábra). A levelek elvesztésével a fertőzött növény visszamarad a növekedésben (Vauterin *et al*, 1995).



15. ábra: *Xanthomonas campestris* pv. *fuscans* okozta tünetek levélen (Internet21)

A kőris jelentős baktériumos betegségét a kőrisrákot, a *Pseudomonas savastanoi* pv. *fraxini* okozza, mely külön fejezetben kerül bemutatásra.

A kőrisrozsdát a *Puccinia fraxinata* okozza, ami teljes fejlődésmenetű, gazdacserés rozsdagomba. A fertőzött kőris levelei torzulhatnak, sárga vagy sárga-narancssárga foltok jelenhetnek meg rajta. Emellett a levél fonákán csésze típusú ecídiumok (16. ábra), míg az uredo- és teleutotelepek perjeféléken (*Poacea*) alakulnak ki (Internet22, Internet23).



16. ábra: *Puccinia fraxinata* okozta tünetek levélen (Internet23)

A gombás betegségei közé tartozó nektáriás rák, amit a *Nectria galligena* okoz leggyakrabban a magas kőrísen fordul elő. A peritéciumok csoportosan helyezkednek el a rákos sebek felületén vagy szélén, melyek oválisak vagy gömbölyűek, élénk piros színűek (17. ábra), majd a fertőzés előrehaladtával elkezdnek besötétedni (Booth, 1967).



17. ábra: *Nectria galligena* (Internet24)

Az aszkuszos gombák közé tartozó kőrísrontó nyelescsészegomba, a *Hymenoscyphus fraxineus* (Needham és Webber, 2013) kőríspusztulást okozó kórokozó, mely szerte Európában komoly problémát jelent. Tünetei a levél csúcsától kiinduló barnuló foltok, majd levéllelhalás, lombhullás és végül a korona elpusztulása, amely a fa kiszáradásához vezethet. A hajtáson, ágakon feketés-vörös repedések és foltok alakulnak ki (18. ábra). A virágos és az amerikai kőrísen nem, de a magas és magyar fajtákon jelentős kórokozó. Fertőzési kísérletekben a magas kőrís csemetéit is károsítja, azonban természetes körülmények között csak magas infekciós nyomás jelenlétében jellemző a fertőzés (Szabó, 2018.). Konídiumos alakját, a *Chalara fraxinea*-t Lengyelországban írták le először, Magyarországon két évvel később, 2008-ban azonosították (Szabó et al., 2009.). Azóta már egyre gyakoribbá vált, súlyos erdőgazdasági következményeket vonva a fafajra.



18. ábra: *Hymenoscyphus fraxineus* (*Chalara fraxinea*) okozta tünetek (Internet25)

A kőrísfajok levélkórokozói a *Phyllosticta orni* és a *Discula orni*, melyek a konídiumos gombák közé tartoznak. Mindkét levélbetegség tünetei kerekded, világosbarna, 3-4 cm átmérőjű

foltokban jelenik meg, melyek általában levélgubacsoktól, vagy más kártevők károsításából eredendően alakulnak ki (Szabó, 2018). Megjelenése összefügg a csapadékos időjárással, leggyakrabban az erdő felújulását biztosító fiatal egyedeken figyelhető meg (Nnadi és Carter, 2021). Különösen a virágos kőrist károsítják a kórokozók (Szabó, 2018).

Erek menti, levélnyéltre is lefutó nektrotikus foltokat okoz a *Phomopsis pterophila*, ami szintén egy konídiumos gombák közé tartozó kórokozó. Nem csak a leveleket fertőzi, hanem hajtásokon és vesszőkön is barna foltokat okoz, leggyakrabban a facsemetéken (Szabó, 2018.). Másodlagos kórokozóként a *Hymenoscyphus fraxineus* (*Chalara fraxinea*) által okozott kéregelhalásokban és környékén is megtalálható, ahol más gyengültségi kórokozók jelenléte is felfedezhető, mint például a *Fusarium* spp (Kowalski *et al.*, 2006; Queloz *et al.*, 2011).

Ha taplógombákról és a kőrisfajokról beszélünk, előfordulhatnak tő- és törzskorhasztó taplók. A virágos kőris esetében a vastag kérgű tapló, azaz a *Ganoderma adspersum* (Chafouz *et al.*, 2023) (19. ábra), a lépcsőzetes tapló (*Oxysporus populinus*) (Schumacher, 1933) és a labirintstapló (*Daedalea quercina*) (Persoon, 1801) fajok előfordulásáról vannak adatok hazánkban. Más kőrisfajokon nem specifikus, sokgazdás taplógombát dokumentáltak már: az almafa rozsdástaplót (*Inonotus hispidus*) (Karst, 1879), a kétalakú csertaplót (*Inonotus nidus-pici*), vöröstaplót (*Phellinus torulosus*) (Bourdot és Galzin, 1925), valamint a bükkstaplót (*Fomes fomentarius*) (Kickx, 1867).



19. ábra: *Ganoderma adspersum*
(Internet26)

Különböző kőrisfajok elhalt farészein több szaprotróf taplófaj is előfordulhat, mint például a barna egyrétűtapló (*Coriolopsis gallica*) (Ryvarden, 1972), a gumós kéreggomba (*Oxyporus latemarginatus* Durieu és Mont, (Donk, 1966)), a lepketapló (*Trametes versicolor*) (Linnaeus, 1753), a borostás egyrétűtapló (*Trametes hirsuta*) (Lloyd, 1924). Az előbb felsoroltak gyakran megtalálhatóan, ellentétben a fekete lemezestaplóval (*Lenzites warnieri*) (Mont és Durieu, 1860) (Igmándy, 1991).

Ezen csövestaplókon kívül még megtalálhatóak kozmopolita korhasztó gombák a kőrisfajok elhalt faanyagán, mint például a hasadtlemező gomba (*Schizophyllum commune*) (Fries, 1815), a borostás réteggomba (*Stereum hirsutum*) (Willd, 1794), a lilás réteggomba (*Chondrostereum purpureum*) (Persoon, 1794) és más egyéb gombafajok (Szabó, 2018).

2.3. *Pseudomonas savastanoi* pv. *fraxini* jellemzése

A *Pseudomonas savastanoi* pv. *fraxini* (Janse 1982, Young *et al.*, 1996) egy növénypatogén baktériumfaj, amely a kőris fajokat (*Fraxinus* spp.) károsítja, a kőrisrák betegséget okozza. A *Pseudomonas* nemzetségen belül a *Pseudomonas syringae* fajkomplexbe sorolható, melyek óriási gazdasági kárt okozva a legjelentősebb fitopatogén baktériumcsoportnak tekinthetők. A fajkomplexbe 15 faj és azok, több mint 50 patotípusai tartozik (Parte, 2020). A *Pseudomonas savastanoi* (ex Smith 1908, Janse 1982, Young *et al.*, 1996) további öt patotípusát különíthetjük el, melyekből csak három okoz rákos sebeket, tumorokat leanderen (*Nerium oleander*, *P. savastanoi* pv. *nerii* (ex Smith 1906; Janse, 1982; Young *et al.*, 1996) (Ramos *et al.*, 2012), olajfán (*Olea europaea*, *P. savastanoi* pv. *savastanoi*) (Koščák *et al.*, 2023) és spanyol jeneszteren (*Retama sphaerocarpa*, *P. savastanoi* pv. *retacarpa*) (Garcia De Los Rios, 1999) (Moreno-Pérez *et al.*, 2020). A *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* (Burkholder, 1926) Young *et al.*, 1978; Gardan *et al.*, 1992) és a *P. savastanoi* pv. *glycinea* (Coerper 1919) Young *et al.*, 1978; Gardan *et al.*, 1992) eltérnek a többi patotípustól, mivel csak levélfoltot okoznak és gazdanövénykörük a pillangósvirágúakra -*Fabaceae*- korlátozódik (Marques *et al.*, 2022).

Felépítését tekintve Gram-negatív, rúd alakú, aerob, 4 poláris flagellum segítségével mozgásra képes baktérium. Oxidáz negatív, kataláz pozitív, képes növekedni 1%-os NaCl oldatban. Citokinin vegyületeket nem állít elő és alacsony az indol-ecetsav (IAA) termelése, ami lehetővé teszi többek között a megkülönböztetés más tumorképző *Pseudomonas savastanoi* patotípusoktól (Janse, 1981a).

2.3.1. A kórokozó eredete, előfordulása

Már i.e. 300-ban Theophraszosz, görög filozófus észlelt daganatszerű képződményeket olajfán (*Olea spp*), amelyhez hasonló tüneteket kőrisen is megfigyeltek Németországban a XXI. században (Nördlinger, 1863). Először Mer (1889) tisztázta a tünetek bakteriális eredetét, mivel sokáig összemosták mechanikai sérülésekkel és különböző kártevők okozta tünetekkel. Később Noack (1893) részletesebben tanulmányozta a betegséget, melyre németül “Eschenkrebs” -ként,

azaz kőrisrákként hivatkozott, majd Vuillemin (1897) megerősítette Noack kutatási eredményeit. Azonban elsőként Brawn (1932) izolálta a kórokozót és igazolta mesterséges fertőzési kísérletben a betegség tipikus tüneteit. A baktériumot a széles körben elfogadott *Bacterium* nemzetségbe sorolta. Az olajfán megjelenő *Bacterium savastano* (*Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*) fajhoz való hasonlóság miatt a kórokozót *Bacterium savastanoi* var. *fraxini*-ként írta le (Brown, 1932). 1937-ben a baktériumot átsorolták a *Phytophthora* nemzetségbe, *Phytophthora savastanoi* var. *fraxini* (Magrou, 1937) néven. Majd 1938-ban *Pseudomonas fraxini*-re (Skoric, 1938) módosult a baktérium elnevezése. Többek között a sejtfal összetétele és a filogenetikai vizsgálatok alapján a *Pseudomonas* nemzetség jobban megfelelt a kórokozó rendszertani besorolásának. Az 1940-80-as évek között a *Pseudomonas syringae* és a *Pseudomonas savastanoi* patotípusai, alfajai vagy változatai közzé sorolták a baktériumot. Végül 1996-ban Young és munkatársai révén a mai napig elfogadott tudományos neve a baktériumnak a *Pseudomonas savastanoi* pv. *fraxini* (Young *et al.* 1996). A kórokozó taxonómiájának, elnevezésének változásai tükrözik a tudományos konszenzust, és utal a mikroorganizmus gazdanövény-specifikus kapcsolatainak fontosságára.

A *P. savastanoi* pv. *fraxini* a magas kőris mellett a keskenylevelű kőrisen, az amerikai kőrisen, a fehér kőrisen és a magyar kőrisen (Janse, 1981b; Janse, 1982; Van Dam és Van der Hoet, 1991; Alvarez *et al.*, 1998; Szabó, 2006) is okoz rákos sebeket. Emellett mesterséges fertőzési kísérletben a virágos kőrisen is tapasztaltak tüneteket (Janse, 1981b). Azonban 1981-ig csak magas kőrisen tapasztalták a megbetegedést, annak ellenére, hogy a keskenylevelű és a virágos kőris elterjedési területei átfednek a magas kőrisével (Janse, 1981b).

A betegséget gyakran megfigyelték olyan talajokon, amelyek nem ideálisak a kőrisnek, mint például a savas-, a kalciumhiányos-, a szegény homokos-, a nehéz agyagos talajon vagy amelynél túl magas, vagy túl alacsony a talajvízszint. Emellett a korlátozott gyökérnövekedést okozó tényezők is befolyásolhatják a kórokozó megjelenését (Janse, 1981a). Azonban a betegség előfordul olyan helyeken is, ahol a talaj és a betegség előfordulása közötti összefüggés kevésbé nyilvánvaló, ahol optimálisak a kőris számára a körülmények.

2.3.2. A betegség tünetei

A betegség első tünetei a kérgen pirosas-barna hólyagok formájában jelentkeznek. Később a kéreg elszíneződik, burjánzásnak indul, majd fokozatosan megreped (20. ábra). Ezekben feketés-barna nekrotikus kéregszövet, vagyis rákos seb kerül a felszínre. A seb formája az ág korától és a

fertőzés kialakításától függően eltérő lehet. A baktériumnyálka a kórokozó számára kedvező környezeti feltételek mellett jelenik meg a kérgen.



20. ábra: Kőrisfa kérgén abiotikus repedések (Internet27), és a kőrisrák tünete (Internet28)

A kialakuló repedések miatt fogékonyabbá, sebezhetővé teszi a baktérium a fertőzött fákat fakultatív paraziták és szaprofiták számára, melyek súlyosbíthatják a szimptóma. A fertőzés korai stádiumait közelről lehet észlelni, csak az idősebb stádiumok feltűnőbbek. (Janse, 1981b.) Súlyosabb esetekben előfordulhat, hogy a kambium jelentős része elpusztul. Így a fertőzés közepén nyitott sebek alakulnak ki, míg a széleken a megnövekedett, megvastagodott, beteg kéreg még mindig jelen van. Ritka esetekben még az is bekövetkezhet, hogy a kallusz is elpusztul (Janse, 1981c.).

2.3.3. Védekezés, megelőzés

A fertőzött fák megsemmisítésével lehet csak megállítani a betegség tovább terjedését az állományban. Megfelelő tápanyag, -és vízellátással a növények kondícióját javítva késleltetni lehet a fertőzést. Ahol ismert a kőrisrák jelenléte, ott fokozott odafigyeléssel, megelőző kémiai védekezéssel, réz alapú hatóanyagok (réz-oxid, réz-hidroxid, réz-oxiklorid) kijuttatásával csökkenthetjük a betegség terjedését (Internet18). Emellett a fák metszése, vagy bármilyen agrotechnikai beavatkozás során fontos az általános higiénia betartása a használt eszközök fertőtlenítésével (Internet29).

A fajták különböző mértékű fogékonysága is nagyban meghatározza a betegség terjedését, súlyosságát. A négy kőrisfajta közül a magas kőris bizonyult a legfogékonyabbnak, a többi között

elhanyagolható a különbség. A magas kőris és néhány nemesített változata, például a *Fraxinus excelsior* 'Pendula', 'Doorenbos' és a 'Westhof's Glorie' fajták érzékenyek mutatkoztak (Janse, 1981a).

3. Anyag és módszerek

3.1. A vizsgálat helye és ideje

A fővárosból és vonzáskörzetéből (Vecsés, Törökbálint), valamint néhány vidéki településről (Cegléd, Pécs, Lillafüred) a kőrisrákra jellemző tüneteket mutató mintákat gyűjtöttünk, különböző növényi részekről, 2023 tavaszától ősziig. A begyűjtött mintákat a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Növényvédelmi Intézet, Növénykórtani Tanszék laboratóriumába szállítottuk. Majd a mintákat, 70%-os etilalkohollal fertőtlenítettük, steril desztillált vízzel homogenizáltuk. A tiszta tenyészeteket klasszikus és molekuláris módszerrel azonosítottuk.

3.2. A vizsgálat anyag

3.2.1. Izolátumok

Vizsgálatainkat a 2. táblázatban feltüntetett 6 izolátummal végeztük. Emellett kontrollként egy *Pseudomonas savastanoi* pv. *fraxini* törzs izolátumot (CFBP 5062) használtunk a Francia Növénypatogén Baktériumok Gyűjteményéből (CFBP) a biokémiai vizsgálatok és a tumorképzési vizsgálat során.

Izolátum kód	Gyűjtés helye	Gyűjtés ideje	Növényi rész	Gyűjtötte
L148	Budapest, Villányi út	2023	kőris virágzat	Fodor Attila
L149	Budapest, Villányi út	2023	kőris virágzat	Fodor Attila
L150	Budapest, Ménesi út	2023	kőris virágzat	Fodor Attila
L151	Budapest, Ménesi út	2023	kőris virágzat	Fodor Attila
L153	Törökbálint	2023	virágzat	Karacs-Végh Anita
L154	Törökbálint	2023	kőris virágzat	Karacs-Végh Anita
CFBP 5062	Németország	1978	-	-

2. táblázat: A vizsgálat során vizsgált izolátumok adatai

3.2.2. Baktériumok fenntartása, tenyésztése, táptalajok

A baktériumok tenyésztéséhez King-B (King *et al.*, 1954) táptalaj használtunk. Ennek összetétele 5 ml glycerol és 36 g King-B agar (Biolab), valamint 1 l desztillált víz. A baktériumok fenntartása a szobahőmérsékleten King-B táptalajon, és -20°C-on és -70°C-on glycerolos konzerváló folyadékban történt, mely összetétele 3 g Beef extract, 20 g glycerol, 5 g pepton, és 1 l desztillált víz.

Levan teszt elvégzéséhez 5%-os szacharózt tartalmazó táptalajt használtunk, mely összetevői 1 l végtérfogatra 23 g nutrier agar és 50 g szacharóz. Az arginin-dihidroláz bontásához használt

táptalaj összetétele 1 g pepton, 5g NaC, 0,3 g K₂HPO₄, 0,010 g fenolvörös, 10g L-Arginin, 3g agar és 1 l desztillált víz (Lelliott *et al.*, 1966).

3.2.3. Növényanyag

A hiperszenzitív reakció vizsgálatához dohánynövényt (*Nicotiana tabacum* cv. Xanthi) használtunk. A LOPAT tesztben használt burgonyát (*Solanum tuberosum*), és a tumorképzés ellenőrzéséhez használt sárgarépat (*Daucus carota*) bevásárló központban vásároltuk. A kísérlet során a patogenitáshoz felhasznált kőrishajtások (*Fraxinus* spp.) a Ménesi út útsorfáiról kerültek begyűjtésre, míg a virágos kőris magoncok hazai őstermelőtől kerültek beszerzésre.

3.2.4. Felhasznált eszközök

Munkánkhoz általános papír-, műanyag-, fém-, porcelán-, és üvegeszközöket használtunk: oltókacs, szike, bonctű, üvegedény, Erlenmeyer-lombik, tárgylemez, Eppendorf csövek, mérőpohár, Pipetta, pipettahegyek stb. 905 mm-es műanyag Petri-csészékben tartottunk fenn a tenyészeteket. A kórokozó izolálása, fenntartása Thermo Scientific MSC 1.2 lamináris fülke alatt valósult meg. A PCR eljárást egy Mastercycler Eppendorf flexlid típusú PCR készülékben végeztük.

3.3. A vizsgálat módszere

3.3.1. Kórokozó izolálása, tenyésztése

A kőrisrák tüneteit mutató növényi részeket (kéregmetszet, termés, ág, virágzat) 70%-os etilalkohollal fertőtlenítettük, ezután a fertőzött és egészséges növényi rész határáról mintát vettünk. A növényi szövetet steril desztillált vízzel homogenizáltuk (Schadd, 1980), majd King-B táptalajra szélesztettük. A 25°C-on 2-3 napon át inokulált tenyészetekből a különálló kolóniák leoltásra kerültek, amikből tiszta tenyészetet állítottunk elő.

3.3.2. A baktérium szuszpenzió előállítása

A vizsgálatokhoz használt baktérium szuszpenziót 24 órás, 25 °C-on tenyésztett tiszta kultúrákból készítettük. A szuszpenziót steril desztillált vízben készítettük, és spektrofotométer segítségével 5×10^7 sejt/ml koncentrációra állítottuk be, 540 nm hullámhosszon mérve.

3.4. A kórokozó azonosításának klasszikus módszerei

3.4.1. Gram tulajdonság

A vizsgálat során 3%-os kálium-hidroxid (KOH) oldatot használtunk. A 18-24 órás tenyészetből egy kolóniát tárgylemezre tettünk, amire egy csepp oldatot helyeztünk. Oltókacs segítségével a mintát homogenizáltuk, majd szálhúzásos módszerrel megvizsgáltuk, hogy a baktériumok sejtfala feloldódott-e (Gregersen, 1978). Ha a KOH oldat feloldja a kórokozó sejtfalát, a keverék nyúlós állagúvá válik, ami azt jelzi, hogy a baktérium Gram-negatív. Ellenben, ha a baktérium Gram-pozitív, a keverék vizes állagú marad, mivel a KOH oldat nem képes feloldani a sejtfalat.

3.4.2. LOPAT teszt

A LOPAT tesztet a *Pseudomonas* fajok differenciálására alkalmazzák, amely öt különféle vizsgáltból áll (3. táblázat) (Thornley, 1960; Klement, 1963; Lelliott *et al.*, 1966; Schaad *et al.*, 2001; Ignjatov *et al.*, 2007; Kaluzna, 2012).

Teszt	Módszer	Pozitív eredmény
Levan	A baktériumokat 5%-os cukortartalmú táptalajra oltottuk, és 26 °C-on 48 órán át inkubáltuk.	Nagy, fehér, fényes, kiemelkedő kolóniák jelennek meg.
Oxidáz	A Biolab által forgalmazott tesztcsíkra friss baktérium tenyészetet vittünk fel, amit egy perc elteltével színreakció alapján értékeltünk.	Krémszínűtől rózsaszínig vagy lilás színváltozás.
Burgonya (Potato) rohasztási képesség	A burgonya szeleteket csapvízzel mostuk, 70%-os etilalkohollal fertőtlenítettük, majd 7-8 mm vastag szeletekre vágtuk és steril Petri-csészébe helyeztük. Fogpiszkáló segítségével baktérium kolóniákkal inokuláltunk a szeletekbe. 26 °C-on, 7 napig 90%-os relatív páratartalom mellett inkubáltuk.	A szúrás helyén és környékén elkezd rohadni a burgonyagumó.
Arginin-dihidroláz bontás	Kémcsőbe töltött arginin-dihidroláz táptalajba baktérium kolóniákat oltottunk, amit paraffinolajjal zártunk le. 26 °C-on 3-4 napig inkubáltuk a csöveket.	Táptalaj narancsszínűvé változik.
Dohánynövényen (Tobacco) végzett hiperszenzitív reakció	5x10 ⁷ sejt/ml koncentrációjú baktérium szuszpenziót fecskendeztünk be a dohánynövény levelébe, amit 24, illetve 48 óra elteltével értékeltünk.	A teszteredmények az időpontoktól függően értékelhetők.

3.táblázat: LOPAT teszt

3.4.3. Biokémiai tulajdonságok vizsgálata

A biokémiai jellemzők meghatározásához a Diagnostics cég által gyártott BIOLOG GN24 tesztet használtuk. A mikrotiter lemez lyukaiban víztelenített szubsztrát található, mely baktérium szuszpenzió hozzáadásával feloldódik. A baktériumok anyagcseréjének hatására az egyes lyukakban színváltozás következik be, amit 24 óra inkubálás után a gyártó utasításai szerint olvastunk le.

3.4.4. Tumorképzés vizsgálata

A tumorképzés használt sárgarépákat csapvízzel alaposan lemossuk, 5 percen át 70%-os etil-alkoholban áztattuk, háromszor steril desztillált vízzel leöblítettük, majd steril szűrőpapíron megszáritottuk. Steril kés segítségével meghámoztuk és 5 mm vastagságú szeletekre vágtuk. Steril fogpiszkálóval baktériumkolóniákat juttatunk be a répaszeletekbe, amelyeket nedvesített, steril szűrőpapírral bélelt Petri-csészékben helyeztünk el. Negatív kontrollként desztillált vízbe mártott fogpiszkálót használtunk. Minden izolátum esetében három fertőzött és két kontroll répaszeletet vontunk a vizsgáltba. A Petri-csészéket steril desztillált vízzel nedvesítettük és 28°C-on, 80%-os relatív páratartalom mellett, 16/8 órás fény/sötétség ciklusban inkubáltuk. Az eredményeket a fertőzést követő 7. és 14. napon dokumentáltuk.

3.4.5. Patogenitási teszt

A nyár folyamán kőris hajtásokat fertőztük, melyeket etil-alkohollal fertőtlenítettük. 5×10^7 sejt/ml töménységű baktérium szuszpenziót juttattuk be a növény szárba és a levelekbe steril fecskendő segítségével. Kontroll esetében desztillált vizet használtunk. Izolátumonként három levelet fertőztünk. Tavasszal izolátumonként 3-3 db kőris csemetét fertőztünk 5×10^7 sejt/ml töménységű szuszpenziójával. A szárazakat a hatodik internódiumnál inokuláltuk, emellett egy összetett levél két levélkéjét is megsértettük fecskendő segítségével. Kontroll esetében desztillált vízzel történt a fertőzés.

3.5. A kórokozó azonosításának molekuláris módszere

3.5.1. Polimeráz-láncreakció (PCR)

A molekuláris vizsgálat során polimeráz-láncreakcióval vizsgáltuk a kórokozó 16S rRNS (Clarridge, 2004), *syrB*, valamint *syrD* (Sorensen *et al.*, 1998) génjeit. A 16S rRNS gént 63F (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3') és 1389R (5'-ACGGGCGGTGTGTACAAG-3')

primerekkel, a *syrB* gént *syrB1* (5'-CTTTCCGTGGTCTTGATGAGG-3') és *syrB2* (15'-TCGATTTTG CCGTGATGAGTC -3') primerekkel, a *syrD* gént pedig *syrD1* (5'-AAACCAAGCAAGAGAAGAAGG-3') és *syrD2* (5'-GGCAATACCGAACAGGAACAC-3') primerekkel amplifikáltuk. A PCR elegy összetevői 25 µl végtérfogatra 12,5 µl Master Mix, 10 µl H₂O, 0,5 µl forward primer (20 µmolos), 0,5 µl revers primer (20 µmolos), 2 µl DNS (szuszpenzió). A PCR reakciók protokollját az 4. táblázat tartalmazza.

Szakasz elnevezése	16S rRNS gén			<i>syrB</i> és <i>syrD</i> gén		
	Hőmérséklet (°C)	Időtartam (min-perc; mp-másodperc)	Ismétlés	Hőmérséklet (°C)	Időtartam (min-perc; mp-másodperc)	Ismétlés
1. Elődenaturáció	94	5 min	1	94	5 min	1
2. Denaturáció	94	15 mp	35	94	90 mp	35
3. Anelláció	55	30 mp		60	90 mp	
4. Polimerizáció	72	90 mp		72	180 mp	
5. Polimerizáció	72	10 min	1	72	10 min	1

4.táblázat: 16S rRNS, *syrB* és *syrD* gének PCR protokollja

3.5.2. Gélelektroforézis

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

3.5.3. PCR termék tisztítás és szekvencianalízis

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

4. Eredmények és értékelésük

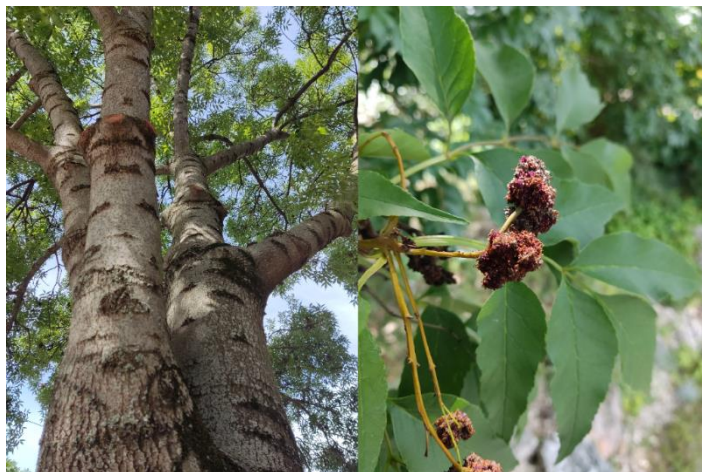
4.1. A körisrák tüneteinek megfigyelése

Kutatásunk során 45 fát vizsgáltunk meg főként Budapest útsorfáin-parkfáin, de emellett Budapest vonzáskörzetében (Vecsés, Törökbálint) és nagyobb városokban (Cegléd, Pécs, Lillafüred), mely során több szempontot vettünk figyelembe: a hajtáson, a törzsön, - és a virágzati részekben lévő tüneteket, elváltozásokat, valamint volt-e nyoma metszésnek. A hajtásokon 15 fánál tapasztaltunk tünetet, a maradék 30 fánál nem volt jelen a körisrák tipikus elváltozása. A fák törzsén eggyel több, azaz 16 fánál volt látható a vizsgált kórokozó kísérőtünete. A legtöbb fa esetében (38 db) megfigyeltük a metszés nyomait (21. ábra).



21. ábra: A megvizsgált fákra lévő tünetek összesítése

A virágzati részek esetében a legtöbb esetben (43) torzulást figyeltünk meg. Azonban vizsgálatainkat nehezítette, hogy nemcsak a baktérium, hanem a körisvirág-gubacsatka (*Aceria fraxinivorus*) kártétele is felelős lehet a tünetek kialakulásáért, ami a kórokozó egyértelmű azonosítását akadályozza (22. ábra).



22. ábra: Kőriskór tünetei törzsön és hajtásvégeken (Kiss-Vincze, 2023)

A kőris hajtásain és virágzatán csomószerű rákos elváltozásokat tapasztaltunk. A hajtásvégeken némely esetben elhalás is megjelent. A fa törzsén a hajtáshoz hasonlóan, de méretében nagyobb daganatokat diagnosztizáltunk. A repedések is gyakoriak voltak a sebek körül, melyekben helyenként baktériumnyálka is megjelent. Ezek a nyílt sebek másodlagos kórokozók melegágyaként szolgálhatnak, tovább rontva ezzel a fa egészségét, túlélési esélyeit.

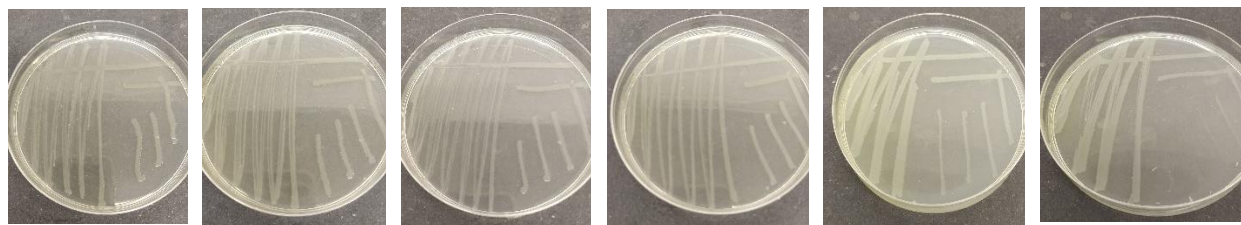
4.2. Kórokozó izolálása, tenyésztése

A vizsgálatba vont 45 kőrisfáról, csak a kőriskór tüneteit mutató virágzati részekből sikerült hat tiszta tenyészetet (L148, L149, L150, L151, L153, L154) létrehozni, melyek közül négyet Budapesten (L148, L149, L150, L151) és kettőt Törökbálintról (L153, L154) gyűjtöttünk. A több vizsgált mintából, nem igazoltuk a kórokozó jelenlétét. Izolátumainkat szobahőmérsékleten King-B táptalajon tartottunk fenn.

4.3. A kórokozók azonosítása klasszikus módszerekkel

4.3.1. A tenyészbélyegek megállapítása

King-B táptalajon mind a hat izolátum könnyen tenyészthető és fenntartható volt. Apró, szürkés-zöldes színű, szabályos, ép szélű, fluoreszcens pigmenteket termelő kolóniákat figyeltünk meg (23. ábra).



L148

L149

L150

L151

L153

L154

23. ábra: A vizsgált izolátumok tenyészbélyege King-B táptalajon 48 órás inkubáció után
(Fodor, 2023)

4.3.2. A Gram tulajdonság

A vizsgálatok során az izolátumok Gram tulajdonság tekintetében megegyeztek. Minden izolátum Gram-negatív tulajdonságot mutatott, mivel a KOH oldat feloltotta az baktériumok sejtfalát. Ez a tenyészbélyegeket mellett megerősíti, hogy az izolátumok a *Pseudomonas* nemzetségbe sorolhatók.

4.3.3. LOPAT teszt

Minden izolátum pozitív reakciót mutatott dohánynövényen végzett hiperszenzitív reakció során. Minden izolátum oxidáz negatív tulajdonságú. Egyik izolátum sem bontotta az arginin-dihidrolázt. Az izolátumok nem rendelkeznek pektolitikus aktivitással, mivel nem rohasztották a burgonyát. Levan termelésben azonban eltértek az izolátumok. Az L149, L150, L151 és L154 izolátumok pozitív reakciót, míg az L148 és L153 izolátumok negatív eredményt mutattak. A vizsgálat alapján a L149, L150, L151, és L154 a LOPAT 1a, míg L148 és L153 izolátumok LOPAT 1b csoportba sorolhatók (5. táblázat).

Teszt elnevezése	Teszt rövidítése	L148	L149	L150	L151	L153	L154
Levan	L	-	+	+	+	-	+
Oxidáz	O	-	-	-	-	-	-
Burgonya (Potato) rohasztási képesség	P	-	-	-	-	-	-
Arginin-dihidroláz bontás	A	-	-	-	-	-	-
Dohánynövényen (Tobacco) végzett hiperszenzitív reakció	T	+	+	+	+	+	+

5.táblázat: LOPAT teszt eredményei

4.3.4. A kórokozó biokémiai jellemzői

A BIOLOG teszt során, a vizsgált izolátumok mindegyike három teszt esetében pozitív (ARG, GGT, ESL), míg tizenöt teszt esetében (GLU, H₂S, bGL, NAG, TRE, MAN, LAC, CEL, DUL, ADO, SOR, RHA, RAF, INO, bGA) negatív eredményt mutatott (6. táblázat).

	URE	GLU	H ₂ S	ARG	ORN	LYS	SCI	bGL
L148	+	-	-	+	+	+	+	-
L149	-	-	-	+	+	+	-	-
L150	-	-	-	+	+	-	-	-
L151	-	-	-	+	+	-	-	-
L153	+	-	-	+	-	-	-	-
L154	+	-	-	+	+	+	-	-
5062	-	-	-	+	+	+	+	-
	NAG	SUC	TRE	MAN	LAC	CEL	MAL	GGT
L148	-	+	-	-	-	-	+	+
L149	-	-	-	-	-	-	+	+
L150	-	-	-	-	-	-	+	+
L151	-	-	-	-	-	-	+	+
L153	-	-	-	-	-	-	+	+
L154	-	-	-	-	-	-	-	+
5062	-	+	-	-	-	-	-	+
	ESL	DUL	ADO	SOR	RHA	RAF	INO	bGA
L148	+	-	-	-	-	-	-	-
L149	+	-	-	-	-	-	-	-
L150	+	-	-	-	-	-	-	-
L151	+	-	-	-	-	-	-	-
L153	+	-	-	-	-	-	-	-
L154	+	-	-	-	-	-	-	-
5062	-	+	-	-	-	-	-	-

6. táblázat: A kórokozó biokémiai jellemzői

Jelmagyarázat: URE-ureáz, GLU-glükóz, H₂S-hidrogén-szulfid, ARG-arginin, ORN-Ornitin, LYS-lizin, SCI-Simmons citrát, bGL-b-glükózidáz, NAG-N-acetil-glükózamid, SUC-szacharóz, TRE-trehalóz, MAN-mannit, LAC-laktóz, CEL-celobióz, MAL-malonát, GGT-gamma glutamyl transzferáz, ESL-eszkulin, DUL-dulcit, ADO-adonit, SOR-szorbit, RHA-ramnóz, RAF-raffinóz, INO-inozit, bGA-b-galaktozidáz

Eltéréseket az izolátumok között hat tulajdonságban (URE, ORN, LYS, SCI, SUC, MAL) tapasztaltunk. Ureáz teszt során három izolátum (L148, L153, L154) pozitív, míg három izolátum (L149, L150, L151) negatív reakciót mutatott. Az ORN teszt esetében az L153 izolátum kivételével minden izolátum pozitív eredményt adott, míg az LYS teszt során három izolátum pozitív (L148, L149, L154), három izolátum (L149, L150, L151) negatív választ adott. A SCI és SUC teszteken csak az L148 adott pozitív választ, míg a MAL teszten a többi izolátumtól eltérően az L154 negatív eredményt mutatott.

Az 5062 törzsizolátum (*Pseudomonas savastanoi* pv. *fraxini*) esetében 7 pozitív reakciót (ARG, GGT, ORN, LYS, SCI, SUC, DUL) figyeltünk meg, míg a negatív eredmények száma 17 volt (URE, GLU, H₂S, bGL, NAG, TRE, MAN, LAC, CEL, MAL, ESL, ADO, SOR, RHA, RAF, INO, bGA). Két tulajdonságban (ESL, DUL) eltért az összes vizsgált izolátumtól (6. táblázat).

4.3.5. Tumorképzés vizsgálata

A tumorképzési teszt során végzett vizsgálatok alapján a sárgarépa-szeleteken apró, kiemelkedő, zöldes színű tumorokat figyeltünk meg minden fertőzött izolátum esetében. A tünetek az inokálás utáni 9. napon váltak detektálhatóvá. Negatív kontroll szelet esetében nem tapasztaltunk semmilyen elváltozást. A törzs izolátum a vizsgált izolátumokkal megegyező tüneteket mutatott (24. ábra).



24. ábra: Kontroll és fertőzött répaszeletek a fertőzést követő 9. napon (Fotó: Fodor, 2024)

4.3.6. Patogenitási teszt

A fertőzött hajtásokon 7 nap után az inokulálás helyén nekrosis jelent meg, majd újabb 7 nap elteltével a fertőzési ponttól a levéllemezen terjedni kezdett. A fertőzés további súlyosbodása, és a hajtások eltarthatóság miatt 25 nap után már nem tudtuk monitorozni a kialakuló tüneteket.

A csemeték fertőzése során minden izolátum nekrozist okozott a kezelt levélkéken a fertőzés utáni 7. napon. A fás részeken csak duzzanatok figyeltünk meg, a tipikus rákos sebek a vizsgált

időszakban még nem alakultak ki. Azonban három izolátum esetében egy-egy fertőzött egyeden (L150, L151, L153) az inokulálási pont feletti hajtáscsúcs elhalását figyeltük meg a fertőzést követő 4. héten. A hajtások belső szöveteit vizsgálva a tracheák elhalását tapasztaltuk (25. ábra). Kontroll csemetéken semmilyen elváltozást nem tapasztaltunk. A mesterségesen fertőzött levelekről, hajtásokról visszaizoláltuk a kórokozókat, és igazoltuk a Koch posztulátumokat.



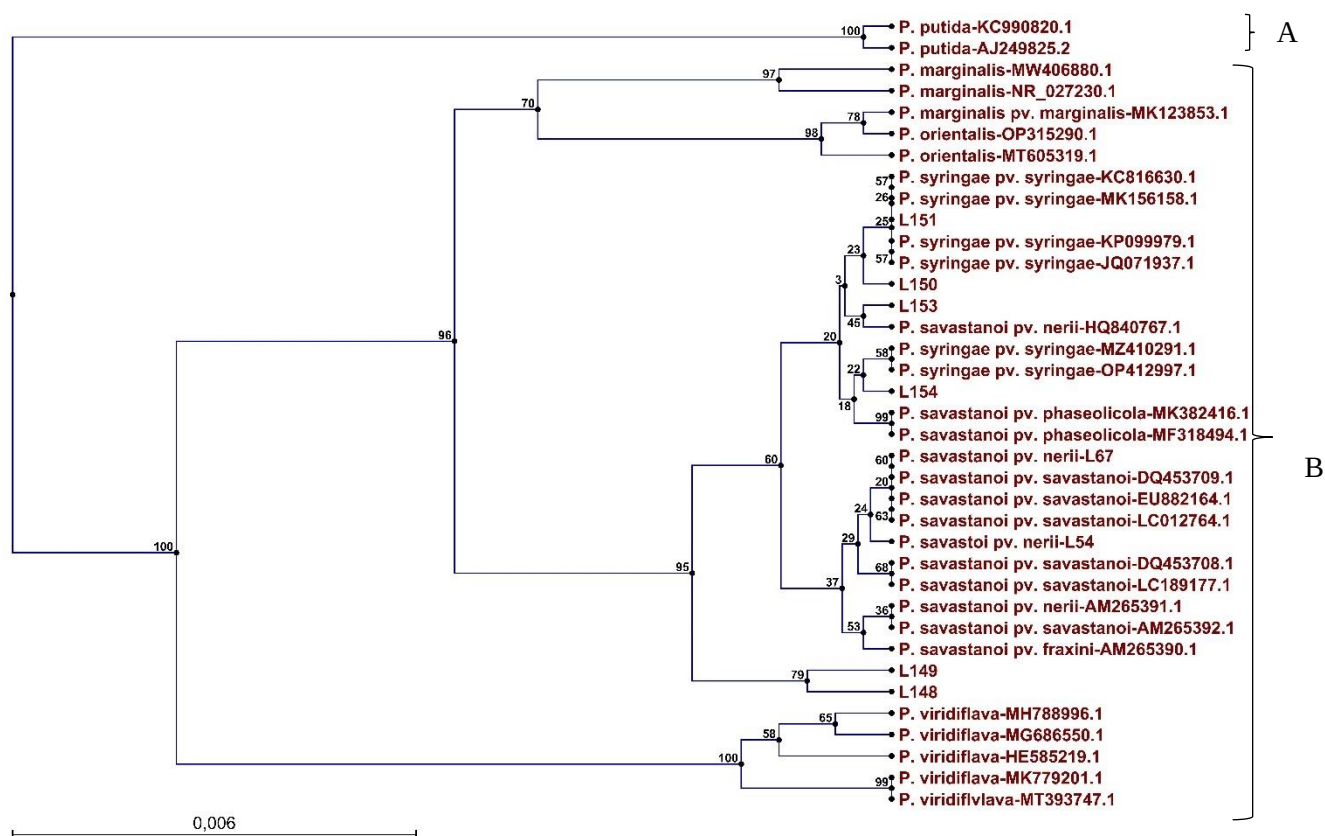
25. ábra: L153 izolátummal fertőzött tünetek kőris elvélen és hajtáson 4 hét inkubálás után (Fotó: Fodor, 2024)

4.4. A kórokozó azonosítása molekuláris módszerekkel

A 16S rRNS gén molekuláris vizsgálata során 1300 bázispár hosszúságú termékek keletkeztek. Az izolátumok részlegesen meghatározott 16S rRNS gént kódoló szakaszok szekvenciáinak feltöltése folyamatban van a nemzetközi adatbázisba. A saját, kőrisről származó izolátumaink (L148, L149, L150, L151, L153, L154) szekvenciáját összehasonlítottuk a nemzetközi adatbázisban (NCBI) található különböző 16S rRNS szekvenciákkal. Saját izolátumaink egymással eltéréseket mutattak. Az L148 izolátum 99.15-99,45%, míg az L153 99,57-100% azonosságot mutat más *P. savastanoi* izolátumokkal. Az L149 izolátum 99.30-99,61%, L150 izolátum 99.61-99,69%, L151 izolátum 99.51-99,69%, L154 izolátum 99.61-99,69% azonosságot mutat más *P. syringae* izolátumokkal.

A rendelkezésre álló szekvenciák alapján filogenetikai törzsfákat készítettünk (26. ábra, 1. melléklet). A törzsfa két részre (A, B) osztható. Az A ágra különülnek el a *P. putida* (KC990820.1, AJ249825.2) izolátumok. A B ágon a *P. orientalis*, *P. marginalis*, *P. syringae*, *P. savastanoi*, *P. viridiflava* izolátumok találhatóak. A *P. orientalis* és *P. marginalis*, valamint a *P. viridiflava*

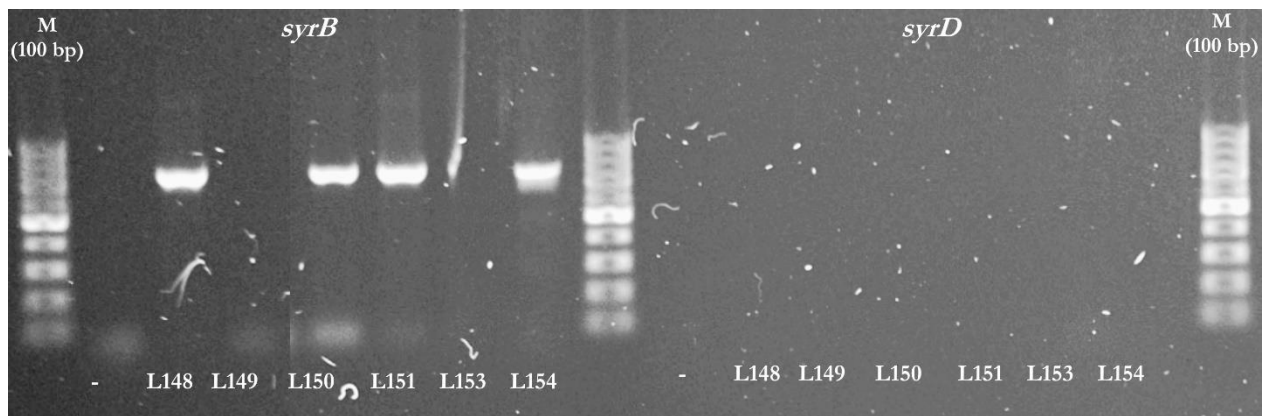
izolátumok jól elkülönülve az ág két végén helyezkednek el. Köztük találhatóak a *P. syringae* és *P. savastanoi* fajok patotípusai, melyekkel izolátumaink a legközelebbi kapcsolatot mutatják. Az L151 izolátum *P. syringae* pv. *syringae* izolátumokkal helyezkedik el egy ágon, és a citromról és a szőlőről izolált *P. syringae* pv. *syringae* izolátumokkal (MK156158, KP099979) mutatja a legközelebbi kapcsolatot. Az L150 és L153 izolátumok ugyan azon az ágon helyezkednek el, és a fügéről azonosított *P. syringae* pv. *syringae* izolátummal (JQ071937) és a leanderről azonosított *P. savastanoi* pv. *nerii* izolátummal (HQ840767) adták a legközelebbi rokonságot. Az L154 izolátum külön ágon helyezkedik el más *P. syringae* pv. *syringae* izolátumokkal, és a legközelebb a citromról azonosított *P. syringae* pv. *syringae* izolátummal (OP412997) és a *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* (MK382416) izolátummal mutatja. Az L148 és L149 izolátumok eltérő ágon helyezkednek el, ezáltal eltérnek a többi izolátumtól, ez feltételezi az új alfaj jelenlétét, azonban szoros kapcsolatban állnak a *P. savastanoi* és *P. syringae* izolátumokkal (26. ábra).



26. ábra: Izolátumok filogenetikai törzsfája a 16S rRNS gén szekvenciák alapján, génbanki izolátumokkal. Saját izolátumok: L148, L149, L150, L151, L153, L154. A törzsfá UPGMA módszerrel készült.

Magyarázat: A vízszintes vonalak az izolátumok egymástól való genetikai távolságát mutatják, míg a függőleges vonalak az izolátumok genetikai azonosságát jelzik az elágazásokig, ahol a feltüntetett számok a bootstrapanalízis eredményeit mutatják, 1000 mintavétel esetén, mutatva a törzsfa megbízhatóságát. A törzsfa alatti skála 6 bázisváltozást mutat 1000 bázisonként.

A *P. syringae* és *P. savastanoi* izolátumok könnyebb elkülönítése érdekében, és a pontos faj meghatározás miatt a 16S rRNS gén mellett vizsgáltuk a *syrB* és *syrD* géneket. A *syrB* gén esetében 752 bázispár hosszúságú termék kiemelésre került az L149, L150, L151 és L154 izolátumok esetében. Ez igazolja az izolátumok syringomicin termelését, ami a *P. syringae* fajra jellemző. Egyik izolátum esetében sem került kiemelésre PCR termék a 446 bázispár hosszú *syrD* gén esetében (27. ábra).



27. ábra: *SyrB* és *syrD* génszakaszok PCR termékeinek ellenőrzése 1%-os agaróz gélben 100 bp markerrel (M)

5. Következtetések

A kőrisrákot okozó *Pseudomonas savastanoi* pv. *fraxini* baktérium veszélyezteti a fák egészségi állapotát és élettartamát is. Munkánk során célul tűztük ki a kórokozó kártételének megfigyelését, felmérését városi környezetben, valamint klasszikus és molekuláris módszerekkel történő azonosítását. Hat településen (Budapest, Vecsés, Cegléd, Törökbálint, Pécs, Lillafüred) 45 fát vizsgáltunk meg. 15 fa esetében tapasztaltunk tüneteket a hajtáson, míg 16 fa esetében a törzsön is detektáltuk a betegségre jellemző tipikus tüneteket. A vizsgált 45 kőrisfáról gyűjtött minta esetében összesen hat tiszta tenyészetet hoztunk létre, melyből négy Budapestről-virágzatról (L148, L149, L150, L151) és kettő Törökbálintról-virágzatról (L153, L154) került begyűjtésre.

Minden izolátum King-B táptalajon apró, szürkés-zöldes színű, szabályos, ép szélű, fluoreszcens pigmenteket termelő kolóniákkal jellemezhető. Ez a tenyészbélyeg a *Pseudomonas* nemzetségre jellemző. A Gram-negatív tulajdonságot KOH teszttel támasztottuk alá (Palleroni, 2005; Janse, 1981a; Janse 1982). Elvégeztük a *Pseudomonas* fajok elkülönítésére szolgáló LOPAT (L-Levan termelés, O-Oxidáz aktivitás, P-burgonya (Potato) rohasztási képesség, A-Arginin-dihidroláz bontás, T-dohánynövényen (Tobacco) végzett hiperszenzitív reakció) tesztet. Minden izolátum pozitív reakciót mutatott dohánynövényen végzett hiperszenzitív reakció során, míg az oxidáz, burgonya rohasztási képesség, arginin-dihidroláz aktivitás vizsgálatokon negatív eredményt adtak. Azonban levan termelésben eltértek az izolátumok. Az L149, L150, L151 és L154 izolátumok levan pozitív, míg az L148 és L153 izolátumok levan negatív tulajdonságot mutattak. A vizsgálat alapján a L149, L150, L151, és L154 izolátumok a LOPAT 1a csoportba sorolhatók, vagyis *Pseudomonas syringae* fajra jellemző tulajdonságokat mutatták. Míg L148 és L153 izolátumok LOPAT 1b csoportba tartoznak, mely tulajdonságok a *Pseudomonas savastanoi* fajra jellemzőek (Lelliott *et al.*, 1966). Azonban fontos kiemelni, hogy a *Pseudomonas savastanoi* levan pozitív izolátumai is ismertek (Ramos *et al.*, 2012), ezáltal a LOPAT teszt eredményeinek alátámasztására további vizsgálatokra van szükség.

A BIOLOG GN 24 biokémiai vizsgálat három teszt esetében pozitív (ARG, GGT, ESL), míg tizenöt teszt esetében (GLU, H₂S, bGL, NAG, TRE, MAN, LAC, CEL, DUL, ADO, SOR, RHA, RAF, INO, bGA) negatív eredményt mutatott minden vizsgált izolátum. Eltérést hat tulajdonságban (URE, ORN, LYS, SCI, SUC, MAL) tapasztaltunk. A *Pseudomonas savastanoi* pv. *fraxini* törzs izolátum (5062) 8 tulajdonságban (URE, ORN, LYS, SCI, SUC, MAL, ESL, DUL) mutat eltérést. ESL teszten negatív, míg DUL teszten pozitív a többi izolátumtól eltérően. A másik

hat tulajdonság tekintetében egy-vagy néhány tulajdonságban hasonlóságot mutat a vizsgált izolátumokkal.

A sárgarépa szeleteken történő tumorképzési vizsgálatot *Agrobacterium* spp. kimutatására fejlesztették ki (Keane *et al.*, 1970; Horuz *et al.*, 2018). A vizsgálatot sikeresen alkalmazták a közelmúltban *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* baktériummal szemben is (Doksöz és Bozkurt, 2020), így a módszer alkalmas tumorképző baktérium gyors azonosítására. A répaszeleteken apró, kiemelkedő, zöldes színű tumorokat figyeltünk meg minden fertőzött izolátum esetében az inokulálás utáni 9. napon. Azonban a *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* és számos más patotípusa képes az indol-3-ecetsav termelésére (Glickmann *et al.*, 1998), ami megnehezíti ennek a vegyületnek a felhasználását differenciáló jelzőként a *Pseudomonas syringae* és a *Pseudomonas savastanoi* fajok megkülönböztetésére, különösen, ha mindkét faj képes tumor képzésére répaszeleten. Így a további vizsgálatokra van szükség a két baktériumnemzetség elkülönítésére. A patogenitási vizsgálat során minden izolátum nekrózis okozott a levélkéken a fertőzés utáni 7. napon. A fás részeken csak duzzanatok voltak megfigyelhetőek, a tipikus rákos sebek a vizsgált időszakig még nem alakultak ki. Azonban az L150, L151, L153 izolátumok esetében az inokulálási pont felett hajtáscsúcs elhalását figyeltük meg a fertőzést követő 4. héten.

Molekuláris azonosítás során 16S rRNS gén molekuláris vizsgálata során ~1300 bázispár hosszúságú termékek jöttek létre. Izolátumaink szekvenciáját összehasonlítottuk a nemzetközi adatbázisban (NCBI) található különböző 16S rRNS szekvenciákkal. Az L151 izolátum a citromról és a szőlőről izolált *P. syringae* pv. *syringae* izolátumokkal (MK156158, KP099979) mutatja a legközelebbi kapcsolatot. Az L150 és L153 izolátumok a fügéről azonosított *P. syringae* pv. *syringae* izolátummal (JQ071937) és a leanderről azonosított *P. savastanoi* pv. *nerii* izolátummal (HQ840767) adta a legközelebbi rokonságot. Az L154 izolátum a legközelebb a citromról azonosított *P. syringae* pv. *syringae* izolátummal (OP412997) és a *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* (MK382416) izolátummal mutatja. Az L148 és L149 izolátumok eltérnek a többi izolátumtól, ez feltételezi az új alfaj jelenlétét, azonban szoros kapcsolatban állnak a *P. savastanoi* és *P. syringae* izolátumokkal.

A *syrB* és *syrD* géneket is vizsgáltuk. Az L149, L150, L151 és L154 izolátumok esetében ~752 bázispár hosszúságú termék megerősíti a *syrB* gén jelenlétét, ami arra utal, hogy az izolátumok syringomicint termelnek. Azonban a *syrD* gén esetében nem keletkezett termék, mely azzal magyarázható, hogy a primerek nem mindig kellően specifikusak az izolátumok

peptidtermelésének meghatározására (Sorensen *et al.*, 1998). A *P. syringae* pv. *syringae* mellett többek között a *P. syringae* pv. *aptata*, *P. syringae* pv. *atrofaciens*, *P. syringae* pv. *lachrymans* és *P. fuscovaginae* is termel syringomicint (Bendere *et al.*, 1999; Fogliano *et al.*, 1999). Mivel L149, L150, L151 és L154 izolátumok *syrB* gén vizsgálata során elkülönült más *Pseudomonas syringae* izolátumoktól további vizsgálatok (DNS hibridizáció, zsírsav analízis) indokoltak.

A kőrisrákkal kapcsolatban a hazai szakirodalomban kevés adat áll rendelkezésre. A nemzetközi irodalmat is figyelembe véve a kőrisrák tünetei főként a fás részen, a törzsön jelentkeznek. A kőrisrák tünetei virágzaton a legtöbb esetben csak említésre kerülnek, de pontos adatok, leírások nincsenek. A kőrisrák betegség felismerését a fás részeken mechanikai sérülések, valamint a virágzati részen a kőrisvirág-gubacsatka (*Aceria fraxinivorus*) kártétele is nehezíti. A gyűjtött mintáinkból a baktérium jelenléte a virágzatról gyűjtött mintákból igazolódott. A vizsgált hat izolátum igazolja *Pseudomonas syringae* és *P. savastanoi* jelenlétét is a kőrisfák virágzatán hazánkban, azonban a pontos patotípus meghatározása további vizsgálatokat igényel, annak ellenére, hogy a LOPAT teszt, a tumorképző répateszt vizsgálat, a patogenitási teszt és *syrB* és *syrD* gének vizsgálata is feltételezi a fajok és patotípusai jelenlétét, esetlegesen új alfaj megjelenését is. Eredményeink hiánypótlók a kőrisrák megfigyelését, a kórokozó izolálását, klasszikus és molekuláris módszerekkel való azonosítását tekintve hazánkban.

6. Összefoglalás

A kőrisfák az európai tájképen és városi környezetben különösen fontos szerepet töltenek be, hiszen ezek a fák nem csupán esztétikai és ökológiai szempontból bírnak kiemelkedő jelentőséggel, hanem a biológiai sokféleségben is fontos szerepet játszanak. Emellett a kőrisfák jelentősége abban is megmutatkozik, hogy képesek javítani a városi levegő minőségét, csökkentve a légszennyezettséget és hőmérsékletet, ezzel növelve a környezeti komfortot. Azonban a fák számos betegség gazdája lehetnek, melyek közül a *Pseudomonas savastanoi* pv. *fraxini* által okozott kár különösen aggasztó. Ez a patogén a kőrisrákot okozza, mely súlyosan befolyásolhatja a fák egészségét és élettartamát. A kórokozó a fa sebein keresztül hatol be, és rákos sebek, tumorok kialakulását okozza, mely a szállítószövet elhalását okozhatja, és megakadályozhatja a tápanyagok szállítását, ezáltal gyengítve a fa szerkezetét és növekedési képességét. Ezért munkánk során célul tűztük ki a kórokozó elterjedésének és kísérőtüneteinek felmérését, izolálását és azonosítását klasszikus és molekuláris bakteriológiai módszerekkel.

A 2023 tavasza és ősze között végzett kutatásaink során 45 kőrisfa állapotát elemeztük, ahol a hajtásokon, virágzaton és törzsön megjelenő tipikus tüneteket rögzítettük. Minden vizsgált fáról gyűjtöttünk mintát, azonban csak hat virágzati részből tudtunk növénypatogén fajt izolálni, melyek Budapestről és Törökbálintról kerültek begyűjtésre. A létrehozott hat tiszta tenyészet (L148, L149, L150, L151, L153, L154) King-B táptalajon apró, szürkés-zöldes színű, szabályos, ép szélű, fluoreszcens pigmenteket termelő kolóniákkal jellemezhető. Minden izolátum Gram-negatív tulajdonságú. LOPAT teszt alapján csak a leván termelésben mutattak eltérést az izolátumok. Ez alapján L149, L150, L151, és L154 izolátumok a LOPAT 1a, míg L148 és L153 izolátumok LOPAT 1b csoportba tartoznak. A BIOLOG GN 24 biokémiai vizsgálat az izolátumok hat tulajdonságban mutattak eltérést. A sárgarépa szeleteken apró, kiemelkedő, zöldes színű tumorokat figyeltünk meg minden izolátum esetében. A patogenitási vizsgálat során minden izolátum nekrózis okozott a levélkéken. A fás részekben csak duzzanatok alakultak ki, de a tipikus rákos sebek a vizsgált időszakban még nem alakultak ki. Az L150, L151, L153 izolátumok esetében az inokulálási pont felett a hajtáscsúcs elhalását figyeltük meg. Igazoltuk a Koch-posztulátumokat. Molekuláris azonosítás során az L151, L150, L153 izolátumok *P. syringae*, míg az L154 izolátum *P. savastanoi* izolátumokkal mutatták a legnagyobb homológiát. Az L148 és L149 izolátumok eltérnek, szoros kapcsolatban állnak mind a *P. savastanoi*, mind *P. syringae* izolátumokkal.

Klasszikus és molekuláris vizsgálataink alapján a L151, L150, L153, izolátumokat *P. syringae*, míg L154 izolátumot *P. savastanoi* fajként azonosítottuk. Az L148 és L149 izolátumok mindkét fajhoz szorosan kapcsolódnak, de elkülönülnek azoktól. Ez feltételezheti új patotípus vagy atipikus izolátum jelenlétét. Eredményeink hiánypótlók a kőrisrák megfigyelését, a kórokozó izolálását, klasszikus és molekuláris módszerekkel való azonosítását tekintve hazánkban. A pontos alfaj és faj meghatározáshoz további vizsgálatok (háztartási gének, DNS hibridizáció, zsírsavanalízis) indokoltak. A jövőbeli célkitűzések között továbbá szerepel a kórokozó terjedési dinamikájának részletesebb vizsgálata, az érintett kőrispopulációk genetikai ellenállóképességének felmérése, melyek alapvetően hozzájárulhatnak a fenntartható erdészeti és közterületi növényvédelmi stratégiák kialakításához, fejlesztéséhez.

7. Köszönetnyilvánítás

Szeretném kifejezni hálámat a Magyar Agrár és Élettudományi Egyetem Növényvédelmi Intézet Növénykórtani Tanszék munkatársainak, amiért lehetőséget biztosítottak számomra diplomamunkám elkészítéséhez.

Ezen kívül köszönöm konzulenseim, Dr. Karacs-Végh Anita és Fodor Attila áldozatos támogatását, szakmai irányítását és értékes tanácsait, amelyek végig vezettek, segítettek a munkám során.

8. Irodalomjegyzék

8.1. Nyomtatott források

1. Alvarez, F., Garcia De Los Rios, J.E., Jimenez, P., Rojas, A., Reche, P. and Troya, M.T. (1998). Phenotypic variability in different strains of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* isolated from different hosts. European Journal of Plant Pathology. 104, 603-609.
2. Baral, H.O and Bemmam, M. (2014.) *Hymenoscyphus fraxineus* vs. *Hymenoscyphus albidus* - A comparative light microscopic study on the causal agent of European ash dieback and related foliicolous, stroma-forming species. Mycology.5(4), 228-290. doi: 10.1080/21501203.2014.963720.
3. Bartha, D. (2006.) – A magyar kőris botanikai jellemzése - Erdészeti Lapok, 3, 5.
4. Bartha, D. (2018). Az Év Fája. Erdészeti Lapok, 1, 24-25.
5. Bartha, D. and Csiszár, Á. (2021). Inváziós növényfajok Magyarországon. Amerikai kőris (*Fraxinus pennsylvanica*). Nyugat-magyarországi Egyetem Kiadó, Sopron, 196.
6. Bender, C. L., Alarcón-Chaidez, F. and Gross C. D. (1999). *Pseudomonas syringae* phytotoxins: mode of action, regulation, and biosynthesis by peptide and polyketide synthetases. Microbiology and molecular biology reviews 63, (2), 266-292.
7. Booth, C., (1967). DFB, Descriptions of Fungi and Bacteria (Sheet 147-), CABI International, *Nectria galligena*, doi:10.1079/DFB/20056400147
8. Bourdot, H. and Galzin, A. (1925). Hyménomycètes de France. (XI. Porés). Bulletin Trimestriel de la Société Mycologique de France 41(1, 2): 98-255.
9. Brown, N.A., (1932). Canker of ash trees produced by a variety of the olive-tubercle organism. 27.
10. Chafouz, R., Karavergou, S., Tsiftoglou, O. S., Maskovic, P. and Lazari, D. (2023). *Ganoderma adpersum* (Ganodermataceae): Investigation of Its Secondary Metabolites and the Antioxidant, Antimicrobial, and Cytotoxic Potential of Its Extracts. International Journal of Molecular Sciences. Dec 30;25(1):516. doi: 10.3390/ijms25010516.
11. Csóka, Á., Kézdy, P., Korda, M. and Csiszár, Á. (2019). Practical experiences in invasive alien plant control in protected areas of Hungary. In: Zidar, S. (ed.). Detection and control of forest invasive alien species in a dynamic world, Book of abstract of the international conference of the Life Artemis project, 25–28 September.

12. Doksöz, F. and S., Bozkurt, İ.A., (2020). A new and simple pathogenicity test using carrot slices for *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, causal disease agent of olive knot. Journal of Plant Pathology. 102, 1173–1177.
13. Donk, M.A. (1966). Notes on European polypores - I. Persoonia. 4(3):337-343.
14. Fogliano, V., Gallo, M., Vinale, F., Ritieni, A., Randazzo, G., Greco, M., Lops, R., and Graniti, A. (1999) Immunological detection of syringopeptins produced by *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*. Physiology Molecular Plant Pathology. 55:255-261.
15. Fries, E.M. (1818). Observationes mycologicae. G. Bonnier, Part 2. 372, Pl. 5–8.
16. Garcia De Los Rios, J.E. (1999). *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss, a new host of *Pseudomonas savastanoi*. Phytopathologia Mediterranea. 38, 54–60.
17. Gaskin, T. R., Tischendorf, M., Günther, I., Rehanek, M., Büttner, C., and Von Bargen, S. (2021). Characterization of a novel emaravirus affecting ash species (*Fraxinus spp.*) in Europe. Forests, 12(11), 1574. <https://doi.org/10.3390/f12111574>
18. Gencsi L. and Vancsura R. (1992), Dendrológia – Erdészeti növénytan II. Mezőgazda Kiadó
19. Glickmann, E., Gardan, L., Jacquet, S., Hussain, S., Elasri, M., Petit, A., and Dessaux, Y. (1998). Auxin production is a common feature of most pathovars of *Pseudomonas syringae*. Molecular plant-microbe interactions, 11(2), 156-162.
20. Gregersen, T. (1978). Rapid method for distinction of gram-negative from gram-positive bacteria. European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology. 5, 2, 123–127. doi:10.1007/bf00498806
21. Horuz, S., Çağlar, B.K., Küsek, M. and Aysan, Y., 2018. Crown gall disease susceptibility of some stone fruit rootstocks in Turkey. Journal of Agricultural Sciences 24, 439–444.
22. Hu, J., and Schalaus, J. (2021). First report of a ‘*Candidatus Phytoplasma fraxini*’-related strain associated with witches’-broom of Arizona ash. New Disease Reports, 44(1), e12023. <https://doi.org/10.1002/ndr2.12023>
23. Igmándy, Z. (1991). A magyar erdők taplógombái. – Akadémiai Kiadó, Budapest
24. Ignjatov, M., Milosevic, M., Nikolić, Z., Vujakovic, M. and Petrović, D. (2007). Characterization of *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* isolates from Vojvodina. The Polish Phytopathological Society. 45, 43-54.

25. Janse, J.D. (1981a): The bacterial disease of ash (*Fraxinus excelsior*) caused by *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* pv. *fraxini* I. History, occurrence, and symptoms. European Journal of Plant Pathology, 11, 306-315.
26. Janse, J.D. (1981b): The bacterial disease of ash (*Fraxinus excelsior*) caused by *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* pv. *fraxini* II. Etiology and taxonomic considerations. European Journal of Plant Pathology, 11, 438-448
27. Janse, J.D. (1981c): The bacterial disease of ash (*Fraxinus excelsior*) caused by *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* pv. *fraxini* III. Pathogenesis. 0300- European Journal of Plant Pathology, 12, 218-231
28. Janse, J.D. 1982: *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* (ex Smith) subsp. nov., nom. rev., the bacterium causing excrescences on *Oleaceae* and *Nerium oleander* L. International Journal of Systematic Bacteriology 32(2): 166-169.
29. Kaluzna, M., Janse, D. and Young, J., M. (2012). Deteciton and indentification methods and new test as used and developed in the farmework of cost 873 from bacteria pathogenic to stone fruits and nuts. Journal of Plant Pathology. 94, 1, 117-126.
30. Keane, P., Kerr, A., and New, P., (1970). Crown gall of stone fruit II. Identification and nomenclature of *Agrobacterium* isolates. Australian Journal of Biological Sciences 23, 585– 596.
31. King, E.O., Ward, M.K., and Raney, D.E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. Journal of Laboratory and Clinical Medicine. 44, 301-307.
32. Klement, Z. (1963). Rapid detection of the pathogenicity of phytopathogenic *Pseudomonads*. Nature. 199, 299-300.
33. Koščak L, Lamovšek J, Đermić E, Tegli S, Gruntar I. and Godena S. (2023). Identification and characterisation of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* as the causal agent of olive knot disease in Croatian, Slovenian and Portuguese olive (*Olea europaea* L.) orchards. plants (Basel). 12(2), 307. doi: 10.3390/plants12020307.
34. Kowalski, T. (2006). *Chalara fraxinea* sp. Nov. Associated with dieback of ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland *Chalara fraxinea* sp. Nov. Forest Pathology, 36(4), 264-270. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2006.00453.x>

35. Lal A., Kim YH., Vo TTB., Wira Sanjaya IGNP., Ho PT., Byun HS., Choi HS., Kil EJ. and Lee S. (2021). Identification of a Novel Geminivirus in *Fraxinus rhynchophylla* in Korea. *Viruses*. 28;13(12):2385. doi: 10.3390/v13122385.
36. Lelliott, R. A., Billing, E., and Hayward A. C. (1966). A Determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic Pseudomonads. *Journal of Applied Bacteriology*. 29 (3): 470-489.
37. Linnaeus, C. von (1763). Ed. 2. *Species Plantarum*. 2. Laurentii Salvii.
38. Lloyd, C.G. (1924). Mycological notes, no. 73. *Mycological Writings* 7: 1301-1332.
39. Marques, A.S. dos A., Corbière, R., Gardan, L., Tourte, C., Manceau, C., Taylor, J.D. and
40. Mer, E., 1889: Influence de l'exposition sur l'accroissement de recorce des sapins. *Journal de botanique*., Paris, 3, 114-121.
41. Moreno-Pérez A., Pintado A., Murillo J., Caballo-Ponce E., Tegli S., Moretti C., Rodríguez-Palenzuela P. & Ramos C. (2020). Host range determinants of *Pseudomonas savastanoi* pathovars of woody hosts revealed by comparative genomics and cross-pathogenicity tests. *Front Plant Sci*. 2; 11:973. doi: 10.3389/fpls.2020.00973.
42. Needham, J. and Webber, J. (2022) *Hymenoscyphus fraxineus* (ash dieback). CABI Compendium.
43. Noack, F., (1893). Der Eschenkrebs, eine Bakterienkrankheit. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten (Pflanzenpathologie) und Pflanzenschutz*. 3,193-199.
44. Nördlinger, H. (1863): Winterkalteschaden und Sonnenbrand an der Esche, *Fraxinus excelsior*. *Kritische Blätter* 46, 240-247.
45. Nnadi, N. E., and Carter, D. A. (2021). Climate change and the emergence of fungal pathogens. *PLoS pathogens*, 17(4), <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009503>
46. Palleroni, N.J. (2005) Genus I. *Pseudomonas*. In: Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T. (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Part B: The Proteobacteria. Springer, New York, 323– 379
47. Parte, A.C., Sardà C.J., Meier-Kolthoff, J.P., Reimer, L.C. and Göker, M. (2020): List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 70 (11), 5607–5612.
48. Persoon, C.H. (1794). *Dispositio methodica fungorum*. *Neues Magazin für die Botanik* 1: 81-128.

49. Persoon, C.H. (1801). Synopsis Methodica Fungorum. Henricus Dieterich.
50. Queloz, V., Grünig, C. R., Berndt, R., Kowalski, T., Sieber, T. N., Holdenrieder, O. (2011). Cryptic speciation in *Hymenoscyphus albidus*. Forest Pathology, 41(2), 133-142. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2010.00645.x>
51. Ramos C., Matas IM., Bardaji L., Aragón IM. and Murillo J. (2012). *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*: some like it knot. Molecular Plant Pathology.;13(9):998-1009. doi: 10.1111/j.1364-3703.2012.00816.x.
52. Ryvarden, L. 1972: A critical checklist of the Polyporaceae in tropical East Africa. Norwegian Journal of Botany 19(3-4): 229-238.
53. Schaad, W., Jones, J.B. and Chun, W. (2001). laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3rd Edition, APS Press, St. Paul, 373.
54. Samson, R., (2000): Multiphasic approach for the identification of the different classification levels of *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*. European Journal of Plant Pathology 106, 715–734.
55. Szabó I. (2018). Az Év Fája, Erdészeti Lapok, 6, 12.
56. Szabó I., Németh L., Nagy L., Bartha D. (2009). A magas kőris hajtáspusztulása. Erdészeti Lapok, 2, 6.
57. Szabó, I. (2006). Az év fája: A magyar kőris kórokozói. Erdészeti Lapok, (12), 414-415.
58. Skoric, V., 1938: Jasenov rak i njegov uzročnik (The ash canker and its causal organism). Glasnik za sumske Pokuse. 6, 66-97.
59. The Ircpm *Phytoplasma/spiroplasma* Working Team-*Phytoplasma* Taxonomy Group. (2004). '*Candidatus phytoplasma*', a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects. Int International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.;54(Pt 4):1243-1255. doi: 10.1099/ij.s.0.02854-0. PMID: 15280299.
60. Thornley, M.J. (1960). The differentiation of *Pseudomonas* from other Gram-negative bacteria 45nt he basisof arginine metabolism. Journal of Applied Bacteriology. 23, 37–52.
61. Tóth I. (2012), Lomblevelű dísfák, díszcserjék kézikönyve. Dunaharaszti, Tarkavirág és Kereskedelmi Szolgáltató Kft.
62. Van Dam, B.C. and Van der Hoet, H. (1991): Testing *Fraxinus excelsior*, *Fraxinus americana* and *Fraxinus pennsylvanica* for resistance to *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* pv. *fraxini*. European Journal of Forest Pathology. 21 (6-7), 365-376.

63. Varela-Correa C. A. and Franco-Lara L. (2020). First Report of a '*Candidatus Phytoplasma fraxini*'-Related Strain Associated with Potato in Colombia - Faculty of Basic and Applied Sciences, Universidad Militar Nueva Granada, Colombia. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-19-2464-PDN>, 2
64. Vauterin, L.; Hoste, B.; Kersters, K.; Swings, J. (1995). Reclassification of *Xanthomonas*. International Journal of Systematic Bacteriology 45(3): 472-489.
65. Vuillemin, P., 1897: Association du *Cbaetopboma olcacina* et du *Bacillus olea*. Bull. Société mycologique de France, 13, 44-45.
66. Young, J. M.; Dye, D. W.; Bradbury, J. F.; Panagopoulos, C. G.; Robbs, C. F. (1978). A proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. New Zealand Journal of Agricultural Research 21(1): 153-177.
67. Young J.M., Saddler G.S., Takikawa Y., De Boer S.H., Vauterin L., Garden L., Gvozdyak R.I. and Stead D.E. (1996) Names of plant pathogenic bacteria 1864-1995. Review of Plant Pathology, 75 (9) 721-763.

8.1. Internetes források

1. famuves.hu honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 2. forrás: <http://famuves.hu/>
2. Magasköris. oszk.hu honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 2. forrás: <https://oszk.hu/>
3. Magasköris. wikimedia.org honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 2. forrás: <https://wikimedia.org/>
4. Keskenylevelű kőris. megyeriszabolcskertesze.hu honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 2. forrás: <http://megyeriszabolcskertesze.hu/>
5. Amerikaiköris. oszk.hu honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 2. forrás: <https://oszk.hu/>
6. Amerikai kőris. wikimedia.org honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 2. forrás: <https://wikimedia.org/>
7. Virágoskőris. mek.oszk.hu honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 8. forrás: <https://mek.oszk.hu/00500/00544/html/zarva/viragos.htm>
8. Virágos kőris. saleyor-yougardener.s3.amazonaws.com honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 8. forrás: <https://saleyor-yougardener.s3.amazonaws.com/>
9. Keskenylevelű kőris. vdberk.fr honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 8. forrás: <https://www.vdberk.fr/arbres/fraxinus-angustifolia-raywood/>

10. Fehér kőris. florama.fr honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 8. forrás: <https://www.florama.fr/produit/fraxinus-americana/>
11. Amerikai kőris. - Изображение особи. plantarium.ru honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 8. forrás: <https://plantarium.ru/>
12. Amerikai kőris. pfw.edu honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 10. forrás: <https://www.pfw.edu/microsites/native-trees/green-ash>
13. Ördögárok, vákáncsos kunyhó és egyedülálló kőriserdő csalogat a Debreceni Erdőpuszták világába. 24.hu honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 10. forrás: <https://24.hu/>
14. Virágos Kőris gondozása, szaporítása. botanikaland.hu honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 10. forrás: <https://botanikaland.hu/>
15. FŐKERT – A BKM Nonprofit Zrt. FŐKERT Kertészeti Divízió hivatalos weboldala. fokert.hu honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 10. forrás: <https://fokert.hu/>
16. ksh.hu honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 15. forrás: <http://ksh.hu/>
17. Ash Dieback (*Hymenoscyphus fraxineus*) - Woodland Trust. woodlandtrust.org.uk honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 15. forrás: <https://woodlandtrust.org.uk/>
18. *Fraxinus mosaic virus*. umn.edu honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 15. forrás: <https://umn.edu/>
19. *Candidatus Phytoplasma fraxini*. eppo.int honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 21. forrás: <https://gd.eppo.int/>
20. Plantwise Knowledge Bank. plantwiseplusknowledgebank.org honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 17. forrás: <https://plantwiseplusknowledgebank.org/>
21. *Xanthomonas campestris* pv. *fuscans*. treenewal.com honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 17. forrás: <https://treenewal.com/>
22. Clark A. - 7 Ash Tree Diseases and How to Treat Them. lotusmagus.com honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 20. forrás: <https://lotusmagus.com/>
23. Hughes A. - 8 Ash Tree Diseases and Issues to Know About. thespruce.com honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 20. forrás: <https://thespruce.com/>
24. Nectria canker (*Nectria galligena*). ipmimages.org honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 20. forrás: <https://ipmimages.org/>
25. intensive dieback of ash (*Chalara fraxinea*). forestryimages.org honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 22. forrás: <https://forestryimages.org/>

26. Tree Bark Canker Disease Identification, Treatment, and Prevention. thetreecareguide.com honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 22. forrás: <https://thetreecareguide.com/>
27. brickfieldspark.org honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 28. forrás: <http://brickfieldspark.org/>
28. *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. biodiversidadvirtual.org honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 24. forrás: <https://www.biodiversidadvirtual.org/>
29. Canker - How to identify and treat the disease Canker in plants. gardenaction.co.uk honlapja. Letöltés dátuma: 2024. április 24. forrás: <http://gardenaction.co.uk/>

9. Mellékletek

1. melléklet: A 16S rRNS gén vizsgálatához felhasznált, az NCBI adatbázisból származó izolátumok adatai

NCBI kód	Izolátum	Gazdanövény	Származás	Publikálta
KC990820.1	<i>P. putida</i>	<i>Olaj</i>	India	*
AJ249825.2	<i>P. putida</i>	-	Svájc	Beilen <i>et al.</i> , 2001
MW406880.1	<i>P. marginalis</i>	-	Kína	Wang, S., 2020
NR_027230.1	<i>P. marginalis</i>	-	USA	Moore, <i>et al.</i> , 2019
MK123853.1	<i>P. marginalis</i> pv. <i>marginalis</i>	-	Ukrajna	Dankevych, 2018
OP315290.1	<i>P. orientalis</i>	-	Irán	Esmailizad <i>et al.</i> , 2022
MT605319.1	<i>P. orientalis</i>	<i>Xyleborinus saxenii</i>	Németország	Baumann <i>et al.</i> , 2020
KC816630.1	<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i>	<i>Capsicum annum</i>	Kína	Guan és Luo, 2013
MK156158.1	<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i>	<i>Vitis</i> sp.	Olaszország	Gerin <i>et al.</i> , 2019
KP099979.1	<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i>	<i>Citrus reticulata</i>	Szerbia	Ivanovic <i>et al.</i> , 2015
JQ071937.1	<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i>	<i>Ficus carica</i>	Szerbia	Obradovic <i>et al.</i> , 2012
HQ840767.1	<i>P. savastanoi</i> pv. <i>nerii</i>	<i>Nerium oleander</i>	Irán	Ghasemi <i>et al.</i> , 2011
MZ410291.1	<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i>	<i>Vaccinium corymbosum</i>	Szerbia	Zlatkovic és Gasic., 2022
OP412997.1	<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i>	<i>Citrullus lanatus</i>	Görögország	Pagoulidou <i>et al.</i> , 2022
MK382416.1	<i>P. savastanoi</i> pv. <i>phaseolicola</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Új-Zéland	Weir és Park, 2019
MF318494.1	<i>P. savastanoi</i> pv. <i>phaseolicola</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Törökország	Ozturk és Aksoy 2018
DQ453709.1	<i>P. savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>	-	Spanyolország	Perez-Martinez <i>et al.</i> , 2007
EU882164.1	<i>P. savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>	<i>Olea europaea</i>	Olaszország	Balestra <i>et al.</i> , 2010
LC012764.1	<i>P. savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>	<i>Olea europaea</i>	Japán	Tsuji <i>et al.</i> , 2015
DQ453708.1	<i>P. savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>	-	Spanyolország	Perez-Martinez <i>et al.</i> , 2007
LC189177.1	<i>P. savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>	<i>Olea europaea</i>	Japán	Tsuji <i>et al.</i> , 2017
AM265391.1	<i>P. savastanoi</i> pv. <i>nerii</i>	-	Olaszország	Santilli, 2007
AM265392.1	<i>P. savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>	-	Olaszország	Santilli, 2007
AM265390.1	<i>P. savastanoi</i> pv. <i>fraxini</i>	-	Olaszország	Santilli, 2007
MH788996.1	<i>P. viridiflava</i>	<i>Medicago sativa</i>	USA	Lipps, 2018
MG686550.1	<i>P. viridiflava</i>	<i>Brassica rapa</i>	Kína	Zhang, <i>et al.</i> , 2018
HE585219.1	<i>P. viridiflava</i>	<i>Ocimum basilicum</i>	Magyarország	Végh, <i>et al.</i> , 2012
MK779201.1	<i>P. viridiflava</i>	<i>Malus x floribunda</i>	Dél-Korea	Choi <i>et al.</i> , 2020
MT393747.1	<i>P. viridiflava</i>	<i>Helianthus annuus</i>	Dél-Korea	Luo és Yu, 2020
L54	<i>P. savastanoi</i> pv. <i>nerii</i>	<i>Nerium oleander</i>	Magyarország	*
L67	<i>P. savastanoi</i> pv. <i>nerii</i>	<i>Nerium oleander</i>	Magyarország	*

Jelmagyarázat: - hiányzó adat, * nem publikált