

**Hazai fitoftórási növénybetegségek  
felmérése és a kórokozók feno- és  
genotípusos vizsgálata**

**Zárójelentés  
OTKA-azonosító: K61107  
Készítette: Dr. Bakonyi József**

**2011**

## Problémafelvetés, célkitűzés

A fitoftórák növényi betegségek rendkívüli gazdasági és környezeti károkat okoznak világszerte. Ennek ellenére Magyarországon kevés figyelmet fordítottak korábban e furcsa, gombaszerű, de az algákkal rokon szervezetekre. Feltételeztük, hogy a pályázati munka kezdetéig jelzett néhány fajon kívül sok egyéb is előfordul hazánkban, de nem zárhattuk ki ismeretlen fajok azonosítását sem. Pályázatunk fő célja a hazánkban előforduló *Phytophthora*-fajok és az általuk kiváltott betegségek felmérése, ill. a kórokozók azonosítása és változékonyságuk tanulmányozása volt.

## Főbb eredmények témakörönként

Tekintettel arra, hogy eredményeink egy részét publikáltuk, ill. fennmaradó részük még publikálandó, e zárójelentésben eltekintenek tudományos részadatok közlésétől.

### I. Fitoftórák izolálása és azonosítása

Munkánk során közel 300 fitoftóraizolátumot gyűjtöttünk elsősorban fás dísznövényekről, de izoláltunk erdőkből, valamint vizes, mocsaras élőhelyekről és patakpartokon is. Az egy növényegyedről, ill. élőhelyről származó azonos morfológiai és fiziológiai jegyekkel bíró, megítélésünk szerint azonos taxonba tartozó tenyészetek közül 150 reprezentatív izolátum rendszertani besorolását molekuláris biológiai vizsgálatokkal (izozimek és/vagy rDNS ITS-szekvenciaelemzés) is igazoltuk. Összesen 18 *Phytophthora*-fajt (beleértve néhány még le nem írt fitoftórát, ill. új fajt) határoztunk meg 19 növényfajról, erdők és gyümölcsösök talajából. Hazai viszonylatban 32 új fitoftóra/gazdanövény kombinációt, ill. 7 korábban hazánkban ismeretlen kórokozót azonosítottunk (lásd az alábbi felsorolást, ahol \* jelzi a hazai viszonylatban új adatot, ill. a formálisan még le nem írt fajokat „*P. taxon*”-ként jelezzük):

*P. alni*: éger

*P. cactorum*: gyümölcsös talaj\*, levendula\*, naspolya\*

*P. cambivora*: gesztenye, hamisciprus\*, kaukázusi jegenyefenyő\*

*P. cinnamomi*: hamisciprus\*, himalájai selyemfenyő\*, tiszafa\*, rododendron (hollandiai import)\*

*P. citricola* komplex: bükk\*, hamisciprus\*, nemes jegenyefenyő\*, málna\*, rododendron\*, tiszafa\*,

Erdőtälajok

*P. citrophthora*\*: babérhanga\*, balkáni selyemfenyő\*, cserjés pimpó\*, hamisciprus\*, nemes jegenyefenyő\*, orgona\*, puszpáng\*, törpe arizonai jegenyefenyő\*, rododendron\*

*P. cryptogea*: orvosi zsálya\*

*P. nicotianae*: rododendron\*

*P. nicotianae* × *P. cactorum* hibrid\*: puszpáng\*, hamisciprus\*, levendula\*, rododendron\*

*P. sp. niederhauserii*\*: hamisciprus\*, kaukázusi jegenyefenyő\*

*P. gonapodyides*, *P. inundata*, *P. megasperma*, *P. polonica*\*, *P. taxon* Hungarica\*, *P. taxon* Salixsoil, *P. taxon* Forestsoil\* és *P. syringae*\*: erdőtälajokban, patakparton.

Számos *Pythium*-izolátumot is kitenyésztettünk, de néhány kivételtől eltekintve nem határoztuk meg őket. Továbbá hagymákról, melyek a föld feletti növényi részeket érintő tünetek alapján akár fitoftórák betegségben is szenvedhettek volna, elsőként írtuk le

Magyarországon a *Sclerotium cepivorum* gombát, mely a fehér rothadás kiváltójaként az egyik legnagyobb gazdasági kárt okozta világszerte.

Nem terveztük a pályázatban, de a 2010-es év rendkívül csapadékos időjárása miatt fellépő burgonyavész járvány kivételes, csak ritkán adódó lehetőséget teremtett arra, hogy hazai *P. infestans* izolátumokat gyűjtsünk. A kórokozó mintegy 80 izolátumát tenyésztettük ki. Ezen izolátumok SSR-genotipizálását a közeljövőben szeretnénk elvégezni, valószínűleg Nagy Zoltán Árpád által megpályázandó külföldi tanulmányút keretében. Korábban megvizsgáltunk 150, zömmel 1998 és 2002 között gyűjtött hazai izolátumot. Újabb adataink a populációszerkezet vizsgálatát egy szélesebb időskálán teszik lehetővé, ami a populációgenetikai kutatások esetében különösen érdekes lehet.

„Fitoftrák izolálása és azonosítása” témakörrel kapcsolatos publikációs tevékenység (IF: 3,62)

Egyes fajok első hazai előfordulását (pl. *P. cactorum* naspolyán, *P. citricola* hamiscipruson, *P. sp. niederhauserii* dísznövényeken, *S. cepivorum* hagymán) Plant Disease Note, New Disease Report, ill. Növényvédelem-cikkek formájában már közöltük. Jelenleg bírálat alatt áll egy hasonló jellegű Plant Disease Note a *P. citrophthora* első hazai előfordulásáról. Továbbá eredményeinkről különböző hazai (Növényvédelmi Tudományos Napok, Keszthelyi Növényvédelmi Fórum) és külföldi nemzetközi (IUFRO- és COST-) rendezvényeken számoltunk be előadások vagy poszterek formájában.

- Bakonyi, J., Nagy, Z. Á. and Érsek, T. 2006. First report of *Phytophthora citricola* on false cypress in Hungary. Plant Disease (Disease Note) 90, p. 1358. IF:1,8
- Bakonyi, J., Nagy, Z. Á., Varga, K., Koltay, A. és Érsek, T. 2006. Első adatok a *Phytophthora citricola* hazai előfordulásáról. Növényvédelem 42, 579–585.
- Bakonyi, J., Nagy, Z. Á., Belbahri, L., Józsa, A., Nechwatal, J., Koltay, A., Fischl, G., Cooke, D., Brasier, C. and Woodward, S. 2009. Identification and molecular characterization of *Phytophthora* taxa collected from woody hosts in Hungary. COST Action FP0801 „Established and Emerging *Phytophthora*: Increasing Threats to Woodland and Forest Ecosystems in Europe” 2<sup>nd</sup> Working Groups Meeting, WG3. Diagnostics and WG4. Management and Control, University of Algarve, 10–12 September 2009, Faro, Portugal. Book of Abstracts, p. 16.
- Bakonyi, J., Vajna, L., Szeredi, A., Tímár, E., Kovács, G.M., Csósz, M. and Varga, A. 2011. First Report of *Sclerotium cepivorum* causing white rot of garlic in Hungary. New Disease Reports 23, 5. [doi:10.5197/j.2044-0588.2011.023.005].
- Bonants, P., Bakonyi, J. and WG3 members. 2010. FP801 From Nursery to Forest: The Increasing Threat to Trees and Forest Ecosystems from the Genus *Phytophthora*. Working Group 3: Diagnostics. 5<sup>th</sup> IUFRO Working Party 7.02.09 Meeting on *Phytophthoras* in Forests and Natural Ecosystems, Auckland and Rotorua, New Zealand, 7–12 March, 2010. Poster presentation, Abstracts p. 4.
- Érsek, T., Belbahri, L., Nagy, Z. Á., Bakonyi, J., Crovadore, J., Lefort, F. és Eke, I. 2007. Első adatok a naspolya fitoftrás pusztulásáról és a *Phytophthora cactorum* hazai előfordulásáról. Növényvédelem 43, 561–566.
- Érsek, T., Belbahri, L., Nagy, Z. Á., Bakonyi, J., Crovadore, J. and Lefort, F. 2008. Medlar decline caused by *Phytophthora cactorum* in Hungary, Plant Pathology 57, p. 775. IF: 1,82
- Érsek, T., Crovadore, J., Belbahri, L., Nagy, Z. Á., Bakonyi, J. and Lefort, F. 2008. *Phytophthora cactorum* causing medlar decline in Hungary. Les nouveaux ravageurs et maladies des plantes cultivées, Journées ACL/ARMH/Jardin Suisse, 23 janvier 2008, CEPL, Jussy, Switzerland, Poster.

- Józsa, A., Bakonyi, J., Nagy, Z. Á., Belbahri, L., Nechwatal, J., Koltay, A., Fischl, G., Cooke, D., Brasier, C. and Woodward, S. 2009. *Phytophthora* species collected from woody ornamentals and forestry in Hungary. COST Action FP0801 „Established and Emerging *Phytophthora*: Increasing Threats to Woodland and Forest Ecosystems in Europe” 2<sup>nd</sup> MC Joint Working Group Meetings, 16–19 April 2009, Nový Smokovec, Slovakia, poster.
- Józsa, A., Bakonyi, J., Nagy, Z. Á. és Fischl, G. 2010. *Phytophthora*-fajok előfordulása díszfaiskolákban Magyarországon. XX. Keszthelyi Növényvédelmi Fórum, 2010. január 27–29., Keszthely, Összefoglaló (abstract), p. 75.
- Józsa, A., Bakonyi, J., Nagy, Z. Á., Fischl, G. and Takács, A. 2010. Multiple *Phytophthora* species in woody ornamental nurseries in Hungary. 28<sup>th</sup> International Horticultural Congress, 22–27 August 2010, Lisboa, Portugal. Poster presentation, S09.217.
- Józsa, A., Nagy, Z. Á., Fischl, G., Takács, A. and Bakonyi, J. 2010. Various *Phytophthora* species on woody ornamentals in Hungary. COST Action FP0801 „Established and Emerging *Phytophthora*: Increasing Threats to Woodland and Forest Ecosystems in Europe” Fifth Meeting, 28–30 June 2010, Viterbo, Italy. Abstracts p. 1.
- Szigethy, A., Józsa, A., Nagy, Z. Á., Fischl, G. és Bakonyi, J. 2011. Dísznövényekről izolált *Phytophthora*-fajhibridek morfológiai és molekuláris biológiai jellemzése. In: Kőmíves, T., Haltrich, A. és Molnár, J. (szerk.) 57. Növényvédelmi Tudományos Napok, Budapest, 2011. február 21–22, összefoglaló (abstract), p. 43.

## **II. A *Phytophthora* sp. *niederhauserii* informális taxon morfológiai és többgénés filogenetikai jellemzése**

A „*Phytophthora* sp. *niederhauserii*” kórokozóval kapcsolatos munkánk szervesen kapcsolódik a „Fitoftórák izolálása és azonosítása” témakörhöz. Kiemelésének oka az, hogy egy új, világszerte jelentős károkat okozó fitoftórával állunk szemben. A kórokozót hamisciprus és kaukázusi jegenyefenyő nekrotikus gyökeréről és szártövéről izoláltuk hazánkban elsőként. Korábban Európában és az USA-ban is azonosították számos dísznövényen. A faj formális leírására alakult egy nemzetközi összefogás, melyben csoportunknak feladata volt a hazai izolátumok jellemzése. Morfológiai, fiziológiai és többgénés (Btub, tef1a, cox1 és nadh1) filogenetikai összehasonlító vizsgálatokat végeztünk. Emellett a gazdanövényfajokon sebzéses fertőzésekkel igazoltuk izolátumaink patogenitását. Eredményeink egybevágtak mások adataival.

### **„A *Phytophthora* sp. *niederhauserii* informális taxon morfológiai és többgénés filogenetikai jellemzése” témakörrel kapcsolatos publikációs tevékenység (IF: 2,386)**

A kórokozó első hazai előfordulását New Disease Report formájában közöltük. A faj leírásáról elkészült a közös kézirat még kisebb kiegészítésekre szoruló első változata. Tekintettel arra, hogy nem formális keretek között zajló, a kollégák számára határidőkhöz nem kötött munkáról van szó, nehéz megbecsülni, hogy a kéziratot mikor tudjuk majd benyújtani publikálásra.

- Józsa, A., Bakonyi, J., Belbahri, L., Nagy, Z.Á., Szigethy, A., Bohár, G. and Woodward, S. 2010. A new species of *Phytophthora* reported to cause root and collar rot of common boxwood, Nordmann fir and Port Orford cedar in Hungary. Plant Pathology (New Disease Report) 59, 1166–1167. Doi: 10.1111/j.1365-3059.2010.02359.x. IF: 2,386

### III. *Phytophthora alni* magyarországi izolátumainak azonosítása és genetikai változékonyságuk vizsgálata

A fitoftórást égervést okozó *P. alni* természetes fajhibrid három ismert alfaja közül az agresszívebb és elterjedtebb *P. alni* subsp. *alni*, valamint a kevésbé agresszív és kisebb mértékben elterjedt *P. alni* subsp. *uniformis* alfajok néhány izolátumát korábbi OTKA-kutatásaink során már azonosítottuk Magyarországon. Szintén korábban gyűjtöttünk 2 olyan *P. alni* subsp. *alni* izolátumot is, melyeknek mitokondriális mintázatai (RFLP-i) nem eme alfaj, hanem a *P. alni* subsp. *uniformis* mintázataival egyeztek meg. Jelen pályázatban a kórokozóval kapcsolatos célunk volt e 2 szokatlan izolátum részletesebb molekuláris biológiai jellemzése, valamint egy szélesebb körű felmérés a hazánkban előforduló alfajok és genetikai változékonyságuk tanulmányozására.

További markerek, a nukleáris gének által kódolt glükóz-foszfát izomeráz és az almasav dehidrogenáz izoenzim mintázatai, valamint RAPD-mintázatok tekintetében az említett 2 szokatlan izolátum – a diagnosztikai PCR-hoz hasonlóan – a *P. alni* subsp. *alni* izolátumokkal egyezett. Megfigyeléseink egybeesnek egy francia kutatócsoport adataival, mely szerint a *P. alni* subsp. *alni* hordozza a másik két alfaj (subsp. *uniformis* és subsp. *multiformis*) mitokondriumait, azaz kialakulása valószínűleg a másik két alfajból eredeztethető.

További gyűjtéseinket elsősorban Zala, Győr-Moson-Sopron és Pest megyékben végeztük. Egyszázhuszonhét kéreg- és talajminta közül 50 esetben pozitív eredményt kaptunk, azaz kitenyészítettük a kórokozó összesen 89 izolátumát; valamennyi a *P. alni* subsp. *alni* alfajhoz tartozik specifikus PCR-rel kapott eredményeink szerint. Negyvennyolc izolátum genetikai változékonyságát vizsgáltuk mások által korábban azonosított 9 mikroszatellit (SSR) lokuszban. Az elemzés nem tárt fel nagy genetikai változatosságot; a kilenc felhasznált mikroszatellit lokuszából nyolc néhány kivétellel mindegyik izolátumban egyforma genotípust mutatott, míg egy lokuszban két csoportra (genotípusra) különült el a populáció. A mintagyűjtéssel érintett területek nagysága és az izolátumok száma alapján a kórokozó populációja klónszerű jelleget mutat hazánkban. Minden állományban egyetlen genotípus dominált.

#### „*Phytophthora alni* magyarországi izolátumainak azonosítása és genetikai változékonyságuk vizsgálata” témakörrel kapcsolatos publikációs tevékenység (IF: 1,684)

A két szokatlan izolátummal kapcsolatos eredményeinket az *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* folyóiratban közzeltük. Mivel a fentiekben említett francia kutatócsoport munkánk végéhez közeledve publikálta hasonló eredményeit, saját adataink már nem hordoztak nemzetközi figyelemre érdemes tartalmat.

Az SSR-analízist egy 3 hónapos külföldi tanulmányút során együtt végeztük az említett francia kutatócsoporttal (INRA-Nancy), kik jelen pillanatban további európai izolátumokat tesztelnek és újabb SSR-markerek kifejlesztésén dolgoznak. Adatainkat a *P. alni* európai populációinak változékonyságát tanulmányozó cikkben szeretnénk közösen publikálni, ezért a közlés jellege és időpontja a francia partnertől függ. A hazai részadatokat az 57. Növényvédelmi Tudományos Napokon poszter formájában mutattuk be. Megállapítottuk, hogy a fitoftórást égerpusztulás okozásáért hazánkban is elsősorban a kórokozó agresszívebb alfaja, a *P. alni* subsp. *alni* felelős, melynek ama klónszerű populációja terjedt el Magyarországon, mely Európa más részein is jelen van.

Egy magyar nyelvű dolgozatban tárgyaltuk a fitoftórást égerpusztulás erdészeti jelentőségét Magyarországon. Emellett egy angol nyelvű review-ban összefoglaltuk az égerfitoftórással kapcsolatos eddigi munkáinkat, ill. mások e téren, valamint egyéb interspecifikus fitoftórahibridekkel végzett kutatásait. Emellett egy magyar nyelvű könyvfejezetben áttekintettük a növénypatogén gombák és gombaszerű szervezetek

(fitoftórák) körében eddig igazolt interspecifikus hibrideket és azok ökológiai és növényvédelmi jelentőségét.

- Bakonyi, J., Nagy, Z. Á. and Érsek, T. 2007. A novel hybrid with the nuclear background of *Phytophthora alni* subsp. *alni* exhibits a mitochondrial DNA profile characteristic of *P. alni* subsp. *uniformis*. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica 42, 1–7.
- Érsek, T. and Nagy, Z.Á. 2008. Species hybrids in the genus *Phytophthora* with emphasis on the alder pathogen *Phytophthora alni*: a review., European Journal of Plant Pathology 122, 31–39. IF: 1,684
- Koltay, A., Bakonyi, J. és Nagy, Z. Á. 2007. A fitoftórás égerpusztulás erdészeti jelentősége négy év vizsgálatai alapján. In: Horváth, J., Haltrich, A. és Molnár, J. (szerk.) 53. Növényvédelmi Tudományos Napok, Budapest, 2007. február 20–21. Poszter összefoglaló (abstract), p. 37.
- Koltay, A., Illés, G., Bakonyi, J. és Nagy, Z. Á., 2009. A fitoftórás égerpusztulás erdészeti jelentősége. Növényvédelem 45 (4), 169–177.
- Koltay, A. Illés, G., Bakonyi, J. and Nagy, Z. Á. 2010. The importance of *Phytophthora* disease of alder in Hungarian forests. COST Action FP0801 „Established and Emerging *Phytophthora*: Increasing Threats to Woodland and Forest Ecosystems in Europe” Fifth Meeting, 28–30 June 2010, Viterbo, Italy. Poster abstract p. 56.
- Nagy, Z. Á., Aguayo, J., Husson, C., Szigethy, A., Bakonyi, J. and Marçais, B. 2010. Population genetic analysis of *Phytophthora alni* in Europe. COST Action FP0801 „Established and Emerging *Phytophthora*: Increasing Threats to Woodland and Forest Ecosystems in Europe” Fifth Meeting, 28–30 June 2010, Viterbo, Italy. Poster abstract p. 22.
- Nagy, Z. Á., Aguayo, J., Husson, C., Szigethy, A., Bakonyi, J. and Marçais, B. 2011. A *Phytophthora alni* európai populációinak vizsgálata mikroszatellit markerekkel. In: Kőmíves, T., Haltrich, A. és Molnár, J. (szerk.) 57. Növényvédelmi Tudományos Napok, Budapest, 2011. február 21–22, összefoglaló (abstract), p. 71.

#### **IV. *Phytophthora* „ITS Clade 6”-ba tartozó izolátumok morfológiai, fiziológiai és filogenetikai jellemzése**

Korábbi, illetve jelen OTKA-pályázataink során gyűjtöttünk égeresek talajából és égergyökerekből újabb formálisan le nem írt fitoftóraizolátumokat. Célunk ezen izolátumok részletes morfológiai, fiziológiai, filogenetikai jellemzése és patogenitásuk vizsgálata volt. Az összehasonlításba bevontuk a klád valamennyi ismert taxonjának referencia izolátumait.

Izolátumaink az ún. „ITS Clade 6” filogenetikai csoport tagjai, mely csoport evolúciós szempontból meglehetősen tisztázatlan. Telepmin tázatuk és rDNS ITS-szekvenciáik alapján két jól elkülöníthető csoportba lehetett sorolni izolátumainkat, de a többgénes ( $\beta$ -tub, tef1a, hsp90, nadh1 and cox1) filogenetikai elemzés nem különítette el őket egyértelműen. Mindez a kládon belüli bonyolult, aktív evolúciós folyamatokra utalhat. Jelenleg további gének, ill. klónok szekvenciaelemzését végezzük. Izolátumaink mindegyike csak gyengén fertőzte a bükk, csertölgy, éger, gyertyán, kocsánytalan tölgy, és kőris kéregszövetét sebzéses inokulációt követően, míg egyáltalán nem fertőzte a nyárfákat. Mivel talajból és nekrotikus gyökerekből izoláltuk őket, de súlyos károkat láthatóan nem okoztak, valószínűleg gyenge gyökérszövetként viselkedhetnek a természetben.

Reményeink szerint rövidesen sikerül tisztázni izolátumaink pontos filogenetikai rokonságát és publikálni a fajleírást. Ennek érdekében a kládot legalaposabban ismerő, nemzetközileg elismert kutatókkal működünk együtt napi szinten.

Belbahri, L., Bakonyi, J., Nagy, Z. Á.; Calmin, G., Koltay, A., Woodward, S. and Lefort, F. 2007. Occurrence of novel *Phytophthora* taxa in Hungarian alder forests. 4<sup>th</sup> IUFRO Working Party 7.02.09 Meeting on *Phytophthoras* in Forests and Natural Ecosystems, Asilomar Conference Grounds, Monterey, California, August 26–31, 2007. Abstracts - Posters Presentations, p. 42.

#### **IV. *Phytophthora cambivora* izolátumok izozimelemzése**

Csoportunk résztvevője a COST FP0801 'Established and Emerging *Phytophthora*: Increasing Threats to Woodland and Forest Ecosystems in Europe' EU által támogatott projektnek, mely utazást, tapasztalatszeret támogat, de kutatásra közvetlenül fordítható pénzügyi támogatást nem nyújt. 2010-ben felkérést kaptunk különböző gazdanövényekről/élőhelyekről/országokból származó 150 *P. cambivora* izolátum izozimelemzésére, mely vizsgálatok célja a kórokozó genetikai diverzitásának tanulmányozása. E fitoftóra polifág, fertőz erdei fajokot, fás dísznövényeket, de elsősorban a gesztenye tintafolyásos betegsége kiváltójaként ismert. Alapos populációgenetikai vizsgálatoknak eddig még nem vették alá. Eddig 60 izolátum genotípusát határoztuk meg almasav dehidrogenáz mindkét lokuszában, optimalizáltuk a módszert glükóz-foszfát izomeráz és izocitrát-dehidrogenáz enzimekre. Fennmaradó izolátumaink vizsgálata folyamatos. Végző adatainkat majdan a külföldi partnerek által végzett genotipizálási (SSR) eredményekkel közösen szeretnénk publikálni a COST-projekt lezárását (2012) követően.

#### **További teendők, ill. publikálási lehetőségek**

Tekintettel a művelt témák változatosságára, s a részben ebből adódó számos feladatra, továbbá a fentiekben vázolt, nem hivatalos keretek között zajló nemzetközi együttműködésekre néhány résztema eredményeinek publikálása a későbbiekben várható. Elsősorban az új faj(ok) formális leírása és a 2010-ben indult *P. cambivora*-izozimelemzés eredményeinek közlése várható a későbbiekben. Emellett tudományos és gyakorlati szempontból is érdekesnek tartjuk a *P. nicotianae* × *P. cactorum* fajhibridizolátumok azonosítását Magyarországon. Megítélésünk szerint ezen izolátumok további vizsgálata publikálásra érdemes új tudományos eredményekkel szolgálhat, mely reményeinket e jelentésben nem kívánjuk részletezni.

#### **Köszönetnyilvánítás**

A pályázatban résztvevő munkatársaim nevében is szeretnék köszönetet mondani az Országos Tudományos Kutatási Alapok támogatásáért.