

# DIPLOMAMUNKA

Szabó Bernadett

2023

MAGYAR AGRÁR- ÉS ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM  
NÖVÉNYVÉDELMI INTÉZET  
BUDAPEST

Különböző növények *Xylella fastidiosa* fertőzöttségének tesztelése

Szabó Bernadett

Növényorvos MSc szak

Készült a Növénykórtani Tanszéken.

Tanszéki konzulens: Dr. Karacs-Végh Anita egyetemi docens

Fodor Attila PhD hallgató

Bírálok: \_\_\_\_\_

Budapest, 2023

---

tanszékvezető/szakirányító

---

konzulens

## TARTALOMJEGYZÉK

1.	BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS .....	4
2.	IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	5
2.1.	A <i>Xylella fastidiosa</i> rendszertani besorolása, alfajai .....	5
2.2.	A <i>Xylella fastidiosa</i> jellemzése, biológiája .....	5
2.3.	A kórokozó gazdanövényköre .....	6
2.4.	A kórokozó okozta tünetek .....	8
2.5.	A kórokozó terjedése .....	11
2.6.	Kórokozó-vektor kapcsolat .....	12
2.7.	A <i>Xylella fastidiosa</i> földrajzi elterjedése.....	13
2.8.	A kórokozó eddigi megjelenései .....	14
2.9.	Kockázatok.....	18
2.10.	A kórokozó kimutatása .....	19
2.11.	A kórokozó gazdasági hatása.....	20
2.12.	Védekezési lehetőségek.....	21
2.13.	Növényegészségügyi kockázat .....	23
3.	ANYAG ÉS MÓDSZER.....	25
3.1.	A vizsgálat helye, ideje .....	25
3.2.	A vizsgálat anyaga .....	25
3.2.1.	A gyűjtött minták.....	25
3.2.2.	DNS-kivonáshoz felhasznált anyagok, eszközök .....	26
3.2.3.	PCR során felhasznált eszközök, kitek .....	26
3.2.4.	Gélelektroforézis során felhasznált anyagok, eszközök .....	26
3.3.	A vizsgálat módszere .....	26
3.3.1.	Minták gyűjtése és előkészítése.....	26
3.3.2.	DNS kivonás CTAB módszerrel .....	27
3.3.3.	PCR – Polymerase Chain Reaction .....	29
4.	EREDMÉNYEK.....	30
4.1.	A gyűjtött minták .....	30
4.2.	DNS kivonás a gyűjtött mintákból .....	31
4.3.	16S rRNS génrészlet vizsgálata .....	33
4.4.	RNS polimeráz szigma faktort kódoló régió vizsgálata .....	35
5.	KÖVETKEZTETÉS .....	36
6.	ÖSSZEFOGLALÁS .....	38
7.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS .....	40
8.	IRODALOMJEGYZÉK.....	41
9.	MELLÉKLETEK.....	47

# 1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

Napjainkban számos európai és tengeren túli ország területén jelent egyre nagyobb gondot a *Xylella fastidiosa* kórokozó. Növénypatogén baktérium, mely a jelenlegi szakirodalmi adatok alapján több növénypatogén alfajjal és törzzsel rendelkezik. Több száz gazdaságilag jelentős gazdanövénye ismert, melyeken alfajai különböző betegségeket okoznak az amerikai és európai térségben, komoly hatást gyakorolva ezzel a növénytermesztésre. Kezdetben csak Amerikában, mára már Európa több országában és Ázsiában is igazolták jelenlétét. Az EPPO jelenleg az A2-es listán jegyzi karantén kórokozóként. Megjelenése, detektálása komoly hatósági következményekkel jár. Hazánkban eddig nincs igazoló adat a jelenlétét illetően, ám behozatala rendkívül nagy veszélyt jelentene a hazai növénytermesztésre, szaporítóanyag-kereskedelemre.

A kórokozó veszélyességére és jelentőségére elsőként az egykori Szent István Egyetem Szőlészeti Tanszéke hívta fel a figyelmemet a Kertészmérnök BSc képzésem során. Szembesítettek azzal, hogy a baktérium mekkora veszélyt is jelent az itthoni szőlőtermesztésre, mivel a hazai szőlőtermesztők jelentős része külföldi szaporítóanyaggal telepít, melyek jellemzően *X. fastidiosa* által igazoltan fertőzött országokból származnak, főleg Olaszországból. Ezen kívül széles gazdanövényköre miatt számos más kertészeti ágazatot is veszélyeztet. Így már akkor eldöntöttem, hogy a Növényorvos MSc képzésem során ezzel a kórokozóval szeretnék foglalkozni. Diplomamunkám témájaként választottam tehát gyűjtött minták *X. fastidiosa* fertőzöttségének vizsgálatát, mert meggyőződésem, hogy rövid időn belül megjelenik Magyarországon is, tekintve viszonylag gyors európai terjedését, melyeket külföldi szakirodalmi adatok alátámasztanak. Rendkívül fontosnak tartom egy ekkora jelentőséggel bíró növénypatogén baktérium minél előbbi kimutatását, hiszen így sokkal hamarabb lehet lépéseket tenni a baktérium fertőzési forrásainak felszámolása és további terjedésének megakadályozása érdekében, mindezt az Európai Unió által előírt, a NÉBIH által elrendelt kötelező növényegészségügyi intézkedések formájában.

Kutatásunk során 13 különböző potenciális gazdanövényfaj 82 gyűjtött mintáját vizsgáltuk PCR alapú módszerrel, ahol specifikus primerek segítségével emeltük ki a baktériumok általánosan vizsgált 16S rRNS génjét és az RNS polimeráz szigma faktort kódoló gént. A mintákat különböző helyekről gyűjtöttük be. Vizsgálatainkat nagy reményekkel és bizakodással kezdtük meg, hogy összegezve, több tapasztalatot szerezzünk a karantén kórokozó kimutatásával kapcsolatban. Munkánk során különböző célokat kívántunk megvalósítani:

- növényanyagok gyűjtése potenciális gazdanövényekről,
- DNS kivonás a gyűjtött mintákból,
- a baktériumok általánosan vizsgált szakaszára, a 16S rRNS génre és az RNS polimeráz szigma faktort kódoló génre specifikus primerek segítségével a kiemelt termékek analízise,
- a vizsgált növények *Xylella fastidiosa* fertőzöttségének értékelése.

## 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 2.1. A *Xylella fastidiosa* rendszertani besorolása, alfajai

A baktérium DNS-genom szekvenciájának meghatározására az NCBI adatbázisa szerint először 2000-ben került sor. Egysejtű mikroorganizmus, amit a következő rendszertani besorolás szerint jegyez a szakirodalom (Internet 1):

**Ország** - *Bacteria*  
**Törzs** - *Proteobacteria*  
**Osztály** – *Gammaproteobacteria*  
**Rend** – *Lysobacterales*  
**Család** – *Lysobacteraceae*  
**Nemzetség** – *Xylella*  
**Faj** – *Xylella fastidiosa*

A *X. fastidiosa* jelen ismeretek szerint nemzetségének egyetlen tagja. A *Xylella* nemzetség közeli rokonságban áll a *Xanthomonas* nemzetséggel, korábban ugyanabba a rendbe, családba is sorolták, mint a *Xanthomonas* fajokat (Almeida *et al.*, 2015). Kezdetben vírusként tartották számon, de az 1970-es években kiderült, hogy baktériumról van szó. Elsőként 1987-ben találták meg, nevét is ekkor kapta (EFSA, 2015A).

Faj alatti besorolások szerint jelenleg 6 alfajt különböztetünk meg, melyek közül a *fastidiosa*, *multiplex*, *pauca* és *sandyi* alfajok okozzák világszerte a legnagyobb gazdasági károkat (Denancé *et al.*, 2019). A *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* rendelkezik a legszélesebb és legváltozatosabb gazdanövénykörrel mindközül (Nunney *et al.*, 2013; Coletta-Filho *et al.*, 2016; Végh, 2021; Internet 2).

- *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* (szőlő, citrusfélék, kávé, mandula)
- *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* (főleg fás szárúak; tölgy, platán, szilva, őszibarack)
- *X. fastidiosa* subsp. *pauca* (citrusfélék, kávé, olajfa)
- *X. fastidiosa* subsp. *sandyi* (leander)
- *X. fastidiosa* subsp. *tashke* (rózsaszín trombitafa, díszfák)
- *X. fastidiosa* subsp. *morus* (eperfa)

### 2.2. A *Xylella fastidiosa* jellemzése, biológiája

A *Xylella fastidiosa* egy xilémbe transzlokálódó, vektorok által terjesztett, lassan növekedő, hosszú pálcika alakú, Gram-negatív baktérium. Jellegzetes hullámos sejtfallal rendelkezik. Nincs flagelluma, nem képez spórákat, mérete 0,1-0,5 x 1-5 µm. Jelenléte csak a xilémre korlátozott, természetes körülmények között a xilém nedvekkel táplálkozó rovarvektorok segítségével terjed egyik növényről a másikra. Csak a gyökérben, szárban, levélben szaporodik (Cornara *et al.*, 2019).

Legtöbb esetben ártalmatlan endofitaként látenszen van jelen a gazdanövényekben, ugyanakkor a tünetmentes növények is gyakran szolgálnak inokulum forrásként a vektorszervezeteknek (Hopkins and Purcell, 2002). Egyes gazdanövényekben a baktériumsejtek a növény egyes részeire, vagy a bejutás helyére korlátozódnak. Ám néhány törzse és bizonyos genotípusok felelősek az évről évre egyre jelentősebb gazdasági

károkért kultúrnövényeinkben. Fogékony fajoknál szisztemikusan mozognak az erek vízszállító edénynyalábjain keresztül, főként felfelé, de lefelé is jellemző, és behatolnak minden növényi részbe (EFSA, 2019; EFSA, 2020). A tünetek kialakulásának a száraz őszi hónapok kedveznek igazán (Schaad *et al.*, 2004). A kórokozó életmódjára jellemző, hogy kizárólag a xilémekben mozog és kolonizál. Fertőzése során elzárja a xilémekben akropetálisan áramló víz útját, így a víz és a benne oldott tápanyagok nem jutnak el a növény gyökerétől a hajtásokig, ezáltal idővel a fertőzött növény száradását, majd teljes pusztulását okozza (Maddox *et al.*, 2010). Baktériumcsomók képződnek a xilém ereiben, ami elzáródást okoz és a betegség különböző tünetei, például levelek kanalasodása alakul ki (Simpson *et al.*, 2000). A szállítószövet rendszerben okozott vízszállítási rendellenességek következtében kialakult tünetek gyakran összetéveszthetők abiotikus stressz okozta tünetekkel, mint például víz stressz, só stressz, vagy herbicidek által okozott perzseléses tünetekkel. Mindez a kórokozó azonosításában nehézséget okoz (Schaad *et al.*, 2004). A fertőzés időpontja és a tünetek megjelenése között eltelt lappangási idő változó, néhány hónaptól akár egy évnél tovább is eltarthat, függően a *X. fastidiosa* genotípusától, a gazdanövényfajtától, a növény korától és a környezeti körülményektől. A téli időszak kulcsfontosságú, hiszen a kórokozó egyik évszakról a másikra fennmaradhat, bár a szőlőt és őszibarackot fertőző törzsek csak olyan helyeken maradnak fenn, ahol a tél enyhe (Purcell, 1989). Annak ellenére, hogy a baktérium szívesebben vészeli át a kedvezőtlen körülményeket nyugalomban lévő növényekben, vektorszervezetekben is képes áttelelni. Vektorok könnyen felveszik szívogatás során, az imágó szervezetében látens periódus nélkül szaporodik, korlátlan ideig fennmarad, így áttelelés során átteleltetik a kórokozót is védett körülmények között. Ez a probléma a mezei kabócák esetében (*Cicadellidae*), hiszen ők imágó alakban telelnek, ezzel szemben az európai kabócák (*Aphrophoridae*, *Cercopidae*) tojás alakban vészelik át a nyugalmi időszakot, így nem képesek fenntartani a *X. fastidiosa* áttelelését (Internet 3).

Laboratóriumban baktériumok számára alkalmazott táptalajon *in vitro* tenyésztése lehetséges, tenyésztete fenntartható. Bár táptalajon lassan növekedik, *in planta* a fertőzött növényben viszont gyorsan szaporodik (Maddox *et al.*, 2010). A kórokozó több patogén törzse gazdanövény-specifikus, következésképpen például a szőlő törzs szilvába vagy őszibarackba inokulálva nem fog betegséget kialakítani (Janse and Obradovic, 2010).

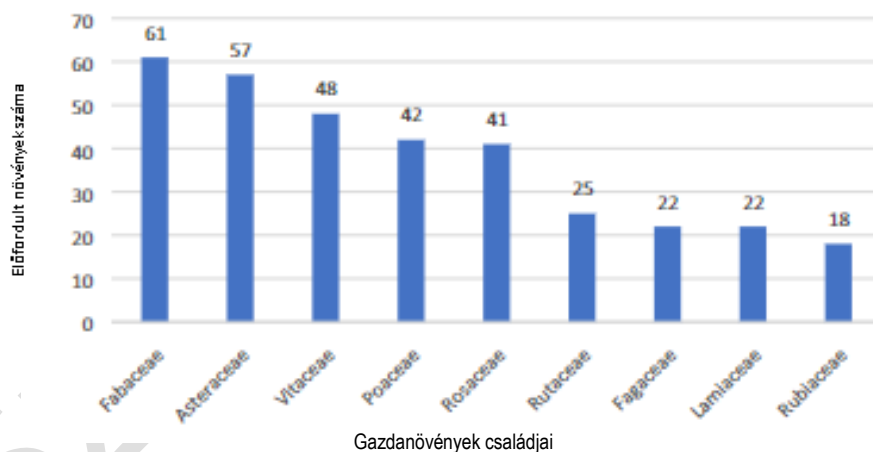
### 2.3. A kórokozó gazdanövényköre

A *X. fastidiosa* fertőzése során kialakult különböző betegségek súlyos gazdasági kárt okozhatnak olyan nagy jelentőségű termesztett növényeinkben, mint a szőlő, csonthéjasok, erdészeti és díszkertészeti kultúrfajaink (Waliullah *et al.*, 2019). Termesztő országokban a kávé, olajfa és citrusfélék is a fő gazdanövényei közé tartoznak. Tekintve ezen fajok világgazdasági jelentőségét, folyamatos komoly növényvédelmi nehézséget, kockázatot jelent. Jelenleg 595 gazdanövénye ismert (EFSA, 2020), 275 nemzetség, 85 család tagjai (Waliullah, 2022), melyek közül 343 növénynél erősítették meg a baktérium jelenlétét legalább két különböző molekuláris vizsgálatral. Sok esetben természetes körülmények között fertőződtek meg a vizsgált növények, ennek oka, hogy a kórokozó vadon élő és gyomfajokon is fennmarad (EFSA, 2020).

Legfontosabb és legismertebb betegségek; a szőlő Pierce betegsége (PD-Pierce's Disease) Észak-Amerikában, citrusféléken a citrusfélék tarka klorózisa (CVC-Citrus Variegated Chlorosis) Dél-Amerikában, és az elmúlt években egyre égetőbbé váló probléma olajfákon az olajfák gyors hanyatlás szindrómája (OQDS-Olive Quick Decline Syndrome), a mandula levélperzselése (ALS-Almond Leaf Scorch) és az őszibarack satnyulása (PPD-Phony Peach Disease). Ezen kívül számos gazdaságilag fontos és kevésbé fontos fajon is ismertek betegségei (pl.: 'Anaheim disease' - szőlő, 'California vine disease' - szőlő, 'Leaf scorch of coffee' - kávé, 'Leaf scorch of elm' - szil, 'Leaf scorch of maple' - juhar, 'Leaf scorch of mulberry' - eperfa, 'Leaf scorch of oleander' - leander, 'Plum leaf scald' - szilva, 'Dwarf disease of alfalfa' - lucerna) (Internet 3).

A *X. fastidiosa* baktériumot korábban generalistaként tartották számon, de ez a kijelentés ma már megdőlni látszik. Egyre több bizonyíték utal arra, hogy bár ez a leírás pontos, a betegségek és a járványok kialakulását tekintve félrevezető. Annak ellenére, hogy növényfajok százait képes fertőzni, mégis a specifikus tünetekkel járó betegségek kialakulása csak bizonyos patotípusok fertőzésének eredményeképpen jöhetnek létre az adott gazdanövényben. A gazdanövényeként felsorolt fajok közül sokat feltételezettnek kell tekinteni, mivel a legtöbb esetben csak a kórokozó izolálása történt meg növéymintából, de a genotípus patogenitásának igazolására szolgáló Koch-posztulátumok teljesítése nem történt meg (Almeida *et al.*, 2015).

Az EFSA 2019-es módosítása szerint a *X. fastidiosa* leggyakoribb gazdanövényei 9 növény családba tartoznak (1. ábra).



1. ábra. A *X. fastidiosa* leggyakoribb gazdanövényeinek családjai (forrás: EFSA, 2019)

Az Európai Unió területén számos növény fogékony a *X. fastidiosa* alfajaira. Ezen gazdanövényeket felhasználásuk alapján csoportosítottuk (Internet 3):

- Gyümölcstermő növények: *Carya illinoensis*, *x Citrofortunella microcarpa*, *Citrus sinensis*, *Citrus trifoliata*, *Coffea arabica*, *Diospyros kaki*, *Ficus carica*, *Juglans regia*, *Morus alba*, *Morus rubra*, *Olea europaea*, *Pistacia vera*, *Prunus armeniaca*, *Prunus avium*, *Prunus cerasifera*, *Prunus cerasus*, *Prunus domestica*, *Prunus dulcis*, *Prunus persica*, *Vaccinium corymbosum*, *Vaccinium darrowii*, *Vaccinium virgatum*, *Vitis labrusca*, *Vitis riparia*, *Vitis vinifera* (Internet 3).

- Disznónövények: *Acacia dealbata*, *Acer pseudoplatanus*, *Cercis siliquastrum*, *Elaeagnus angustifolia*, *Fraxinus angustifolia*, *Gleditsia triacanthos*, *Helichrysum stoechas*, *Hibiscus sp.*, *Ilex aquifolium*, *Lavandula dentata*, *Lavandula latifolia*, *Ligustrum sinense*, *Lonicera japonica*, *Nerium oleander*, *Pelargonium graveolens*, *Pelargonium x fragrans*, *Quercus palustris*, *Quercus rubra*, *Quercus suber*, *Robinia pseudoacacia*, *Rosa canina*, *Rosa Cluster-flowered bush* hibridek, *Rosa multiflora*, *Salvia rosmarinus*, *Strelitzia reginae*, *Santolina chamaecyparissus*, *Vinca minor*
- Gyógy-, és fűszernövények: *Laurus nobilis*, *Lavandula angustifolia*
- Gyomnövények: *Chenopodium album*, *Plantago major*, *Rumex sp.*
- Zöldségnövények: *Raphanus sativus*

## 2.4. A kórokozó okozta tünetek

Nagyon változatos tünetek jelenhetnek meg a fertőzés következtében, attól függően, hogy milyen gazdanövényt a kórokozó melyik törzse fertőzte, ezen kívül a környezeti körülmények, speciális termesztési gyakorlat, a növény egészségi állapota és fenológiai stádiuma is befolyásolja (EPPO, 2019B). Általános makroszimptóma a levélperzselés, amely általában nyáron fejeződik ki és erősödik fel, amikor magasabb a hőmérséklet, szárazabb az időjárás, és a növények víz stressz miatt gyengébb állapotúak. Különösen borszőlő esetében mindez sokkal látványosabb, mert egyes termesztő területeken a technológia részeként szándékosan víz stressznek teszik ki a növényeket a jobb minőség elérése érdekében. Így sokkal kifejezettebb, erősebb tüneteket tapasztalhatunk, sőt a növények a tenyészidőszak végére el is pusztulhatnak. A beteg növényeken számos egyéb tünet is utalhat a baktérium jelenlétére. Főként a nagy árnyékot adó fajokra jellemző a kései rügyfakadás, vontatott növekedés, levélperzselés (Schaad *et al.*, 2004). Ezen kívül a korai lombhullás, klorózis, bronzosodás a levélszél mentén, hajtások és ágak pusztulása, aszimmetrikus vagy törpe levelek fejlődése is a jellegzetes tünetek közé tartoznak (Internet 3). Teljes levélhullás a késői stádiumban jelentkező tünet, mely végül a teljes növény pusztulásához vezet (Waliullah *et al.*, 2019). A baktérium azonban nem minden gazdanövényfajnál okoz tüneteket és megtelepedése nem minden esetben jár együtt betegség kialakulásával (Almeida *et al.*, 2015).

A betegségek tipikus tüneteit fő gazdanövényein (szőlő, őszibarack, citrusfélék, olajfa, mirtuszlevelű pacsirtafű) keresztül ismertetjük a továbbiakban:

### **Szőlő - *Vitis vinifera***

A Pierce betegséget ('Pierce Disease') a *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* alfaj okozza termesztett szőlőn (Internet 3). Az első Koch-posztulátumokkal is igazolt fertőzése 1978-ra tehető (Hopkins, 1985). Bár az 1800-as évek végén, 1892-ben Newton B. Pierce már tanulmányozta a szőlőn megjelenő új keletű betegség eredetét, a kórokozót magát nem tudta megállítani, annyit viszont igen, hogy egy szabad szemmel nem látható, növénypatogén mikroorganizmus okozza (Végh, 2020). Az elsődleges fertőzés legkarakteresebb tünete a levélszáradás vagy levélperzselés. Korai tünet, amikor a zöld levél hirtelen száradásnak indul, a száradás



mentén sárga klorotikus vagy antociános elszíneződést tapasztalunk, attól függően, hogy fehér vagy kék szőlőfajtáról beszélünk (Internet 3). A baktérium megakadályozza a víz tovább áramlását a fertőzés helyén, valamint fitotoxinokat is termel. E két tényező együttesen alakítja ki a levél szélétől induló vízstresszhez hasonló száradásos tünetet (Hopkins, 1984). A száradás szétterjed az egész levélen, a levél összezsugorodik, majd idő előtt lehullik. A levélnyel viszont fent marad a tőkén, ez az úgynevezett „gyufaszál” tünet (Végh, 2020). A fertőzött vesszők gyakran nem megfelelően érnek be a vegetációs időszak végére, így a következő években gyengébb, elhúzódo fejlődésű vesszőket fognak hozni, melyeken klorotikus elszíneződésű levelek jelennek meg (2. ábra). Ezek a tőkék ritkán élnek egy-két évnél tovább (Internet 3).



2. ábra. A Pierce betegség tünetei termesztett szőlőn (*Vitis vinifera*) (forrás: Internet 3)

### Őszibarack – *Prunus persica*

Az őszibarackon megjelenő *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* által okozott betegség a 'Phony Peach Disease', azaz az őszibarack satnyulása (3. ábra). A fiatal hajtások csökevényesek, ugyanakkor zöldebb, sűrűbb lombzatot hoznak, mint az egészséges fák. Az oldalágak vízszintesen nőnek, vagy bókolók, így a fa kompaktabbnak, lekerekítettebb koronaformájúnak tűnik (Janse and Obranovic, 2010). Korábbi virágzás jellemző, a levelek is hamarabb megjelennek, de ősszel tovább fent maradnak a fákon, mint az egészségeseken (Internet 3). A fertőzött fák egyre kevesebb és kisebb termést hoznak, mígnem elérik a gazdaságilag értékelhetetlen kategóriát, ez nagyjából 3-5 év alatt következik be (Hutchins, 1933).



3. ábra. A 'Phony Peach Disease' által okozott jellegzetes sűrű lombzat őszibarackon (forrás: Hopkins and Purcell, 2002)

## Citrusfélék

A citrusfélék tarka klorózisának (CVC - 'Citrus Variegated Chlorosis') tüneteit változatos korban kezdik el mutatni a növények, már palánta mérettől akár 7-10 évek korukig. Ezek a fiatalabb korú fák szisztemikusan fertőződnek a *X. fastidiosa*-val, viszont a 10 évnél idősebb növények nem teljes egészben fertőződnek, csak egy-két főbb águkon mutatnak tüneteket (Janse and Obranovic, 2010). A beteg növények levelein Zn-hiányra emlékeztető



4. ábra. A citrus tarka klorózis jellegzetes tünete citromon (forrás: Internet 3)

klorotikus elszíneződést, érköz klorózist tapasztalhatunk. A klorózis főként fiatal leveleken jelenik meg fejlődésük során, de előfordulhat, hogy idősebb leveleken is láthatunk hasonló tüneteket. Az újonnan fertőzött fákon foltokban jelennek meg a tünetek (Coletta-Filho *et al.*, 2020). Ahogy a levelek fejlődnek, a fonáki részen a klorotikus foltoknak megfelelően kisméretű, világosbarna, enyhén kidomborodó gumyszerű léziókat láthatunk, amelyek később sötétbarnává válnak, nekrotizálódhatnak (4. ábra) (Internet 3).

Ezen felül a gyümölcsméret jelentősen csökken, cukortartalma nő, héja megkeményedik olyannyira, hogy a feldolgozóipar már nem veszi át, mivel amortizálhatja a feldolgozóüzemben használt gépeket (Hartung *et al.*, 1994). Egészséges növényben a virágzás és terméskötődés során történik egy fiziológias termésritkulás, ám a fertőzött fáknál ez a folyamat nem megy végbe. Több termés kötődik, mint kellene, ezért a termések kicsik maradnak (Internet 4), így a termésmennyiség ugyan nem csökken, de a minőség jelentősen. A 'Pera' és más narancsfajtáknál megfigyelték, hogy néhány esetben 4-10-es csoportokban, szőlőfürtszerűen jelentek meg ezek az elaprózódott termések. Az érintett fák összességében vontatott növekedést mutatnak, jelentős a lombkorona veszteségük, gallyak, ágak pusztulhatnak el, maga a növény viszont életben marad (Coletta-Filho *et al.*, 2020).

### Olajfa – *Olea europaea*

Az olajfáknál a fertőzés következtében a már említett OQDS -'Olive Quick Decline Syndrome' betegség alakul ki (5. ábra). Legszembetűnőbb tünet a gallyak, ágak pusztulása elsősorban a lombkoronában. Elsőként a levelek fertőződnek meg, a perzselésszerű száradás a levélcsúcstól indul, majd a teljes levéllemezre kiterjed. Az elhalt levelek egész nyáron fennmaradnak a vesszőkön, gallyakon, melyek szintén elszáradnak. Kezdetben a korona felső részén lokalizálódnak, majd kiterjednek a lombzat többi részére is. Fogékony fajta esetén, az első tünetek megjelenésétől számítva néhány éven belül várható teljes fapusztulás (Martelli, 2016).



5. ábra. A *X. fastidiosa* olajfákon okozott levélszáradás tünete (forrás: Internet 3)

### Mirtuszlevelű pacsirtafű - *Polygala myrtifolia*

Ez a faj, az egyik legfogékonyabb a fertőzés kialakulására európai tapasztalatok szerint. Szintén kezdetben levélcúctól induló száradás tapasztalható (6. ábra), amely később a teljes levéllemezre kiterjed (Internet 3).



6. ábra. Mirtuszlevelű pacsirtafű levélszáradása (forrás: Internet 3)

## 2.5. A kórokozó terjedése

A baktérium nem képes autonóm módon terjedni a környezetben, sem kontaktus, sem légmozgás útján (Internet 3). A *X. fastidiosa* terjedése összetett biotikus és abiotikus kölcsönhatások eredménye, emiatt nehéz megjósolni (Dongiovanni *et al.*, 2018). A kialakult betegségek mindegyikére jellemző, hogy maggal történő terjesztése nem lehetséges (Janse and Obradovic, 2010). Természetes terjedését csak vektorszervezetek biztosítják, melyek általában rövid távolságokat -100-150 métert - tesznek meg, de szél segítségével távolabb is juthatnak (Internet 3). Azonban a terjedési sebesség többek között a kompetens vektorok populációs szintjétől is

függ (Dongiovanni *et al.*, 2018). A kórokozó egy országba való bejutásának és területen belüli terjedésének másik fő módja az ültetésre szánt szaporítóanyag vagy kedvtelésből tartott növények kereskedelme, ami főleg nemzetközi léptékben rejt veszélyeket. Rövidtávon lehetséges a fertőzött vektorok áttelelése növényekben, növényi részekben, emberi ruházaton, járművekkel. Ugyanakkor egyelőre nem valószínű, hogy a *X. fastidiosa* terjeszthető lenne gyümölcsökkel, vágott virágokkal, levéldíszekkel, vagy faipari kereskedelemben (Internet 3).

## 2.6. Kórokozó-vektor kapcsolat

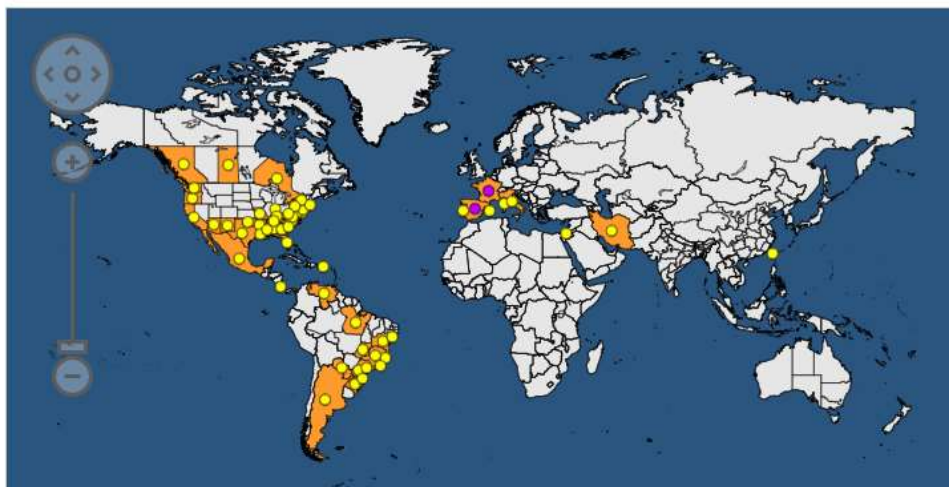
Elméletben minden xilémnedvvel táplálkozó rovar vektornak minősül, egészen addig, amíg az ellenkezőjét nem bizonyítják (Frazier, 1944; Purcell, 1989; Almeida *et al.*, 2005). A terjedés mértéke jelentősen változik annak függvényében, hogy milyen rovarfajról, gazdanövényről és kórokozó genotípusról van szó (Purcell and Finlay, 1979). A *Xylella fastidiosa* az egyetlen ismert bakteriális, ízeltlábúak által terjesztett növénypatogén kórokozó, amely nem kering a vektor hemolimfájában (Backus and Morgan, 2011). A xilémnedvvel felvett baktérium a rovar előbelében marad, nem kolonizálja szisztémikusan az egész testét (Purcell and Finlay, 1979). Ez azt jelenti, hogy a nimfák vedléskor elveszítik fertőzőképességüket, tekintve, hogy az előbél ektodermális eredetű, az imágóban ez is megújul, így annak újra fel kell vennie a baktériumot a növényből, hogy ismét fertőzőképesé váljon. A hőmérséklet kulcsfontosságú a baktérium és a vektorszervezet közötti kapcsolatban. Jelentősen befolyásolja a kórokozó szaporodását a forrás növényekben, a kórokozó szaporodását a vektorban, a kórokozó sikeres megtelepedését az új gazdaszervezetben és a vektor viselkedését egyaránt (Internet 3). Kaliforniai szőlőterületekben a *Homalodisca vitripennis*, *Xyphon fulgidum*, *Draeculacephala minerva* és a *Graphocephala atropunctata* a legfontosabb vektorfajok, amelyek felelősek a Pierce betegség terjesztéséért. Brazíliában citrus ültetvényekben a citrusfélék tarka klorózisának terjedését legtöbbször az *Acrogonia terminalis*, *Dilobopterus costalimai*, *Oncometopia facialis* segítik elő. Az EPPO régióban igazolt vektorfaj a *Philanaenus spumarius*, és vizsgálati körülmények között a *Neophilaenus campestris* és a *Philanaenus italosignus* (Cavaleri *et al.*, 2018; Saponari *et al.*, 2014; Cornara *et al.*, 2017). *P. spumarius* az egyetlen természetes körülmények között is hatékony vektorfaj a baktérium terjesztését illetően, szélsőségesen polifág, egynemzedékes faj. Az olaszországi OQDS kórokozójaként ismert *X. fastidiosa* subsp. *pauca* alfaj ST53-as törzsének gazdanövényköre átfedésben van a *P. spumarius* tápnövényeivel, viszont nimfájának és imágójának eltérő tápnövényköre van. A nimfa a zsenge és fiatal növényi részeket preferálja egyes *Asteraceae*, *Fabaceae* és *Apiaceae* családba tartozó fajoknál (Di Serio *et al.*, 2019; Dongiovanni *et al.*, 2018), melyek gyakran talajtakaróként, vagy invazívan nőnek olajfaligetekben, szántóföldi sövényként, természetes, vagy féltermészetes területeken. Az imágó ezzel szemben fás szárú fajokat kedvel (Internet 3). Dél-Olaszországban (Pugliában) a *P. spumarius* április vége és május eleje között jelenik meg, majd az olajfaligetek lágyszárú növényzetéből az olajfák, és egyéb más lombhullató vagy örökzöld fák lombkoronájába költöznek a késő tavasztól késő nyárig terjedő időszakban (Di Serio *et al.*, 2019; Cornara *et al.*, 2017a; Bodino *et al.*, 2017). Nyár végén, kora ősszel az imágók visszatérnek a lágyszárúakra tojásrakás és telelés céljából. Általánosságban elmondható, hogy a vizsgálatokhoz rovarmintákat a vegetációs időszak végén érdemes gyűjteni, mert ilyenkor több gazdanövényen is táplálkoznak, így nagyobb a fertőzöttség esélye (Internet 3).

Észak Amerikában a leggyakoribb rovarfajok, amelyek a kórokozó által okozott betegségek kialakulásában vektor szerepet játszanak (Cornara *et al.*, 2017; Janse and Obranovic, 2010):

- *Couerna costalis* (PPD)
- *Draculacephala minerva* (ALS)
- *Graphocephala atropuctata*, *G. versuta* (PPD)
- *Hordnia circellata* (PPD)
- *Homalodisca vitripennis*, *H insolita* (PPD, PD)
- *Oncometopia nigricans*, *O. orbona* (PPD)
- *Xyphon fulgida* (CVC, PD)
- *Arcogonia terminalis* (CVC)
- *Dilobopterus costalimai* (CVC)
- *Oncometopia fastialis* (CVC)
- *Cicadella viridis* (lehetséges európai vektorfaj)
- *Philaenus spumarius* (lehetséges európai vektorfaj)

## 2.7. A *Xylella fastidiosa* földrajzi elterjedése

A *X. fastidiosa* az éghajlati övezetek széles skáláján előfordul, trópusi és szubtrópusi területeken, mérsékelt övben, kontinentális régiókban egyaránt (7. ábra). 2010-ig csak Amerikában volt ismert a jelenléte, ami főként Észak-, és Dél-Amerika melegebb területeire korlátozódott (Schaad *et al.* 2004). Mára a kontinens számos országában jelen van a kórokozó; Észak-Amerika (Kanada, Mexikó, Egyesült Államok), Közép-Amerika és a Karib térség (Costa Rica, Puerto Rico), Dél-Amerika (Argentína, Brazília - Bahia, Espirito Santo, Goias, Minas Gerais, Para, Parana, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Sao Paulo, Sergipe -, Paraguay, Venezuela (Internet 3). Ázsia területén Taiwanon detektálták először nashi körtén (Su *et al.*, 2013; Végh, 2020), de már Iránban és Izraelben is igazolták a kórokozó jelenlétét (Internet 3). Megjelenése az EPPO régióban elsőként a dél-olaszországi Pugliában történt (Saponari *et al.*, 2013), majd további mediterrán térségekben: Franciaországban, Korzikán, Izraelben, Olaszországban, Spanyolországban, Németországban, Portugáliában és Baleár-szigeteken. A libanoni, koszovói észlelésnek nincs valóságalapja. Mindez jelentős változást idézett elő a kórokozó földrajzi elterjedésében az évek során (Internet 3).



7. ábra. A kórokozó globális elterjedése (forrás: Internet 3)



Az *X. fastidiosa* által okozott betegségek földrajzi eloszlása főként Észak- és Dél-Amerika melegebb területeire korlátozódnak, kivéve a tajvani körte levélperzselést. Megerősítetlen jelentések szerint a baktérium által okozott betegségek egyéb helyeken is fellelhetők; mint például a volt Jugoszláviában és Indiában (Schaad *et al.*, 2004). Annak ellenére, hogy főleg trópusi és szubtrópusi területeken kerültek beazonosításra, egyes betegségek akár hűvösebb klímán is előfordulhatnak, úgymint a tölgy-levélperzselés, amely egészen Észak-Amerika keleti részétől Kanadáig megtalálható, ezeken a területeken is megfelelő körülmények alakultak ki a baktérium számára (Janse and Obradovic, 2010).

## 2.8. A kórokozó eddigi megjelenései

A *Xylella fastidiosa*, karantén kórokozó, az egyik legfenyegetőbb növényegészségügyi probléma világszerte. A baktérium hosszú múltra tekint vissza, Amerikában számos mezőgazdasági haszonnövényen - lágú-, és fás szárú egyaránt - régóta okoz megbetegedéseket és súlyos gazdasági következményeket, különös tekintettel a szőlőre és a citrusfélékre (Almeida *et al.*, 2019).

### Amerika

A baktérium járványszerű megjelenése eleinte Észak- és Dél-Amerikára volt jellemző (Waliullah *et al.*, 2019), hiszen a kórokozó ezen a kontinensen őshonosan fordul elő (Végh, 2020). Nevezetesen kezdetben két nagy járvány alakult ki, a CVC Brazíliában és a PD Kaliforniában. Elsőként 1892-ben ismerték fel a jelenlétét Kaliforniában termesztett szőlőn (*Vitis vinifera*) (Waliullah *et al.*, 2019), és nevezték el Pierce-betegségnek megtalálója után. Akkor több mint 10 000 hektáron okozta szőlőültvények pusztulását (Végh, 2020). Ezt követően számos más államban is detektálták, úgymint Texas, Florida, Georgia. 2005-ben szintén Georgia államban észlelték a *X. fastidiosa* jelenlétét interspecifikus áfonyanövényeken (*Vaccinium corymbosum*), melyek magas piaci értéket képviseltek az állam területén (Waliullah *et al.*, 2019). Később világszerte több megjelenését is észlelték. Egyelőre kijelenthető, hogy kevés kivételtől eltekintve, nem állnak rendelkezésre elegendő biológiai és ökológiai adatok e folyamatok modellezéséhez, amint azt a közelmúltbeli járványok is bizonyítják (Internet 3).

### **Brazília**

A baktérium Brazília területén először 1987-ben jelent meg (He *et al.* 2000), azóta jelen van citrusfélékben (*Citrus sinensis*), kávéban (*Coffea arabica*) és szilvafélékben (*Prunus spp.*). Ezeken az ismert betegségeket alakítja ki; citrus tarka klorózis (CVC), kávé levélperzselés (CLS), szilva levélperzselés (PLS). Ugyancsak jelen van gyomnövényekben is, melyek veszélyes fertőzési forrást jelentenek, mind inokulum, mind fertőzött vektorok szempontjából (Lopes *et al.*, 2003).

Narancsültvényeiben (*Citrus sinensis*) való megjelenését követően a kórokozó által okozott citrus tarka klorózis azonnali súlyos fenyegetést jelentett nemcsak Brazília, de az egész világ narancstermesztésére egyaránt. A fertőzött gyümölcsök kemények, méretben visszamaradottak, gazdaságilag értékelhetetlenek, ezért az ilyen gyümölcsöt tartalmazó tétel egészét visszautasítják a feldolgozóüzemek (Hartung *et al.*, 1994).

Az országon belüli citrustermelő régiók között gyorsan terjedt a betegség Argentínában 1984-ben észlelték először szintén citrus tarka klorózis formájában (He *et al.*, 2000).

Egy másik gazdaságilag igen jelentős kultúrnövény Brazília területén a szilva. A szilva levélperzselés ('Plum Leaf Scald') egy szintén *Xylella fastidiosa* által okozott betegség, amely a legfőbb növényegészségügyi akadálya a brazíliai szilvatermesztésnek. Súlyosbító tényező, hogy egyes ültetvényekben megtalálható gyomfajok is gazdanövényei a baktériumnak, így fertőzési forrásként szolgálnak (Müller *et al.*, 2022).

## **Európa**

A *X. fastidiosa* első megjelenését már 1998-ban észlelték, az akkori Jugoszlávia területéről és Koszovóból is jelentették a megjelenését szőlő növényekben (Végh, 2020). Európában elsőként 2013-ban jelent meg az olaszországi Puglia régióban olajfákon (Internet 2), öt évvel azután, hogy Amerika bizonyos régióiban komoly globális fenyegetésként kezdtek megítélni (Almeida *et al.*, 2019). Ezután 2015-ben Korzikán is észlelték egzotikus díszcserjéken. Ugyanebben az évben még Spanyolországban és ősszel Alpes-Maritimes-ben (Franciaország) is jelezték a jelenlétét ugyanolyan díszcserjéken, mint amelyek Korzikán fertőződtek meg (Internet 2).

## **Olaszország**

Pugliában drámai kitörése megtizedelte az olajfákat és példátlan zűrzavart okozva komoly kihívások elé állította a helyi gazdaságokat. A helyi termelők megkérdezésével kapott információk azt mutatták, hogy 2008 - 2010 között néhány elszórt olajfán szokatlan kiszáradási tünetek jelentkeztek a lombkoronában (Saponari *et al.*, 2019) (8. ábra). Az OQDS először 2013-ban, a Salento-félsziget olajfa-ültetvényeiben jelent meg (Almeida *et al.*, 2019), amely Dél-Olaszország egyik fő olajbogyó-termesztő területe. Kétségbeejtő eseménynek tekintették első megjelenését, mert az olajfa a mediterrán régió egyik legfontosabb termesztett növénye. Az Európai Unióban gazdaságilag jelentős gazdanövények fenyegetettsége hívta életre Olaszországban is a kórokozó biológiájára, gazdanövények ismeretére, környezeti kölcsönhatásokra, vektorszervezetekre, baktériumtörzsekre vonatkozó tudásalap szélesítését, a fertőzés nyomon követése és megelőzése érdekében. A terepi felmérések, üvegházi és laboratóriumi vizsgálatok igazolták, hogy a térségben egy, a *X. fastidiosa* subsp. *pauca* fajhoz tartozó egyetlen genotípusú baktérium betelepülése történt (Saponari *et al.*, 2019). A *X. fastidiosa* subsp. *pauca* okoz jelenleg is komoly problémát az olajfaültetvényekben, annak is az ST53-as szekvenciatípusa (Giampetruzzi, 2017). A kezdeti gyors terjedése és agresszív fertőzése miatt felszámolási intézkedéseket rendeltek el, próbálták eliminálni a kórokozót a területről, majd ezt felváltották a védekezési intézkedések elrendelése, úgymint; fertőzött területek intenzív határfelmérése, fertőzött fák eltávolítása, kötelező vektorkontroll. Sajnos a védekező intézkedések komoly nehézségekbe ütköztek, a lakosság vonakodott együttműködni az előírt ellenőrző intézkedésekkel, egyes médiák félretájékoztatása is hátráltató tényezőként jelent meg, akárcsak a kormány megfelelő tájékoztatásának hiánya. Mindezek következményeképpen a kórokozó fertőzési határa folyamatosan szélesedett, terjedése nem szűnt meg (Saponari *et al.*, 2019). 2020 és 2021 között további három megjelenését észlelték a tartományban (Internet 3).



8. ábra: Olajfák tömeges pusztulása az olaszországi Puglia tartományban (forrás: Internet 3)

Toszkána területén a *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* alfajt találták meg 2018-ban. 2021-re már 20918 mintából 111-et találtak fertőzöttnek a rendszeres felmérések során (Internet 3).

A *Xylella fastidiosa* jelenlétét 2019 októberében észlelték Lazio tartományban (Róma közelében) üvegházban nevelt *Vinca major* palántákon. A teljes állomány felszámolásával a baktériumot kiirtottnak tekintették. Ám 2021 novemberében megjelent a *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* alfaj mandulafákon Canino-ban. A növényegészségügyi intézkedéseket elvégezték, a fertőzött, és három másik gyanús fát elpusztítottak. További vizsgálatok nem igazolták a kórokozó jelenlétét (Internet 3).

### **Spanyolország**

Alicante tartományban 2017-ben mandulafákon detektálták először a kórokozót. 2022 márciusára az izolálандó területek nagysága 137 996 ha-ra tehető, ebből 2864 ha fertőzött terület, a többi a biztonságos izolációs távolság betartásaként került lezárásra (EPPO, 2019). A lehatárolt területeken a mai napig intenzív monitorozás folyik a baktérium és a baktériummal fertőzött vektorszervezetek jelenlétét illetően. A legfontosabb vektorszervezetek ebben a térségben a *Neophilaenus campestris*, *N. lineatus* és a *Philaenus spumarius* (Noales et al., 2021).

Madridban egyetlen olajfán észlelték a kórokozót 2018-ban, de 2019-ben és 2020-ban a vizsgálatok során már egy új minta sem adott pozitív eredményt sem növényi, sem vektorminták esetén. Nem csak szabadföldi, de üvegházi megjelenését is jelentették Andalúziában 2018-ban (Internet 3).

A Baleár-szigeteken 2016-ban mutatták ki először a *X. fastidiosa*-t, majd azonnal megkezdték a védekezési intézkedéseket. 2022 januárjában 1306 fertőzött növényt találtak, 746-ot Mallorca, 346-ot Ibiza, 214-et Menorca szigetén. Összesen eddig 37 gazdanövényt regisztráltak a Baleár-szigetek területén (Internet 3), köztük a mandula (*Prunus amygdalus*), szőlő (*Vitis vinifera*), füge (*Ficus carica*) és vadon élő és termesztett olajfa (*Olea europaea* subsp. *sylvestris* és subsp. *europaea*) (Moralejo et al., 2020). A mandulafák, amelyek a Baleár-szigetek - főleg Mallorca - mezőgazdasági tájának ikonikus növényei, az elmúlt 15 évben súlyos hanyatláson és



mortalitáson mentek keresztül. A mandula levélszáradás betegségét előzetesen már 2008-tól 2010-ig is tanulmányozták Son Carrióban, Mallorcától keletre. Kezdetben konkrét fajt nem azonosítottak, a betegséget gombatörzsek komplexumának tulajdonították. A *Xylella fastidiosa* azonosítását követően ismerték fel, hogy valójában egy baktériumnak köszönhető a Mallorcán található mandulaállomány 79%-os fertőzöttsége (EU, 2015). Három alfajt azonosítottak a területen:

- *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* (ST1), ugyanaz, amely a Pierce-betegséget okozza szőlőn és mandula levélszáradást Kaliforniában, csak Mallorca szigetén jegyezték fel az országban
- *X. fastidiosa* subsp. *pauca* (ST80), amely csak Ibiza szigetén található, főleg inkább olajfákon (*Olea europaea*)
- *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* (ST81), amely jelen van a Mallorca és Menorca szigeteken, ezen kívül két esetben a subsp. *multiplex* (ST7) patotípusát is detektálták Mallorca-n.

### **Portugália**

Portugália egyes részein szintén jelen van a baktérium. Elsőként 2018-ban jelent meg Portóban (EPPO RS 2019/017), az izolált alfaj a *X. fastidiosa* subsp. *multiplex*. 2021 júliusában zsályában (*Salvia rosmarinus*) találták meg, melyben látens, tünetek kialakulása nélkül volt jelen. Lisszabonban szintén ebben az évben, ám ebben az esetben már tüneteket mutató zsályából (*Salvia rosmarinus*) is kimutatták a kórokozót (Internet 3).

### **Franciaország**

Franciaországban először 2015-ben Korzikáról jelentették a kórokozó észlelését kávénövényekről (Denancé *et al.*, 2017). Majd ugyanebben az évben Provence-Alpes-Côte d'Azur területén is megjelent, mindkét esetben a subsp. *multiplex* alfaj. A subsp. *pauca*-t először 2016-ban találták meg *Polygala myrtifolia* növényben Alpes-Maritimes-ben. Felszámolási intézkedések után a baktérium ismét megjelent 2019-ben olajfákon, illetve a subsp. *multiplex* első alkalommal jelent meg olajfákon 2021-ben, szintén Korzika szigetén. Occitanie területén 2020-ban jelent meg, ezt követően mintegy 200 növényfajról származó 5000 mintát vizsgáltak. Ennek eredményeképpen a subsp. *multiplex* alfajt további 76 fertőzött területen észlelték, 17 különböző településen Aude megyében (Cunty *et al.*, 2022). 2021 decemberében ugyanezen alfaj megjelenését tapasztalták *Spartium junceum* (jeneszter) mintában, melyet egy autópálya melletti üzletből vettek fel a hivatalos intézkedések keretein belül. Felszámolási intézkedések zajlottak ezután. Az EPPO a kórokozót Franciaország területén ugyanazon kategóriába sorolja, mint Olaszország esetében, jelen van, megfelelő intézkedések elvártak (Internet 3).

### **Németország**

A számos európai járványkitörés között Németország is szerepel. 2016-ban egy faiskolai szaporítótelepen leander és rozmaring növényeken találták meg a *X. fastidiosa*-t, annak is subsp. *fastidiosa* alfaját. Ezek a növények szintén felszámolás alá kerültek (Denancé *et al.*, 2017).

## Törökország

2005 júniusában klorotikus tüneteket véltek felfedezni Salinurfa, Dél-Törökország különböző mandulaültvényeiben. A levelek sárgultak, a sárga foltoknak megfelelően nekrotizálódtak, összességében a mandulafák az ismert mandula levélperzselés betegséghez hasonló tüneteket mutattak. DAS-ELISA vizsgálattal 27 tünetet mutató különböző ültvényekben elhelyezkedő növényből 3 adott pozitív eredményt *Xylella fastidiosa*-ra. Másfél hónappal később megismételték a vizsgálatokat más mintákat használva, ebben az esetben már 30 mintából 12 adott pozitív eredményt az ELISA során. Elektronmikroszkóp alatt megvizsgálva megállapították, hogy a tünetmentes minták nem tartalmaztak baktériumsejteket (Güldür *et al.*, 2005).

### 2.9. Kockázatok

Legtöbb vektorfaja Közép-, és Dél-Amerikában honos, ebben a térségben komoly gondot is okoznak gyors terjesztésükkel, főleg a szaporítóanyaggal való terjesztése jelentős. Európában egyelőre csak néhány esetet regisztráltak, ez feltehetően annak köszönhető, hogy kevés potenciális vektorfajunk van Európaszerte. Ennek ellenére, mivel a *X. fastidiosa*-nak számos gazdanövénye ismert (köztük például számos olyan *Vitis* faj is, amelyeket szaporítóanyag-előállításban használnak), ezek behozatala Magyarországra rendkívül nagy kockázatot rejt. Főként a látens jelen lévő kórokozók miatt nem tanácsos alábecsülni a jelentőségét. Abban az esetben sem, ha a fent említett vektorfajok nem találhatók meg hazánkban, hiszen elképzelhető, hogy a helyi *Cicadellidae* fajok is potenciálisan vektorfajokká válhatnak (Janse and Obradovic, 2010). Mindezek miatt a *X. fastidiosa* A2 karantén státuszú az EPPO-régióban. A *Homalodisca vitripennis* pedig, amely szintén igen széles tápnövénykörrel rendelkezik, (köztük mandula, őszibarack és szilva) felkerült az EPPO riasztási listájára (Internet 3). Az Egyesült Államok északibb részeihez hasonlóan a *Vitis* fajták Európában is nagyon fogékonyak a kórokozóra, komoly kockázatot jelenthet, ha egy veszélyes vektorfaj meghonosodik hazánkban. Elképzelhető, hogy teleléssel túléli Dél-Európa enyhébb teleit, akár a vadon élő gazdanövényekben is fennmarad és olyan tavaszi fertőzést okoz, amely nagy valószínűséggel az azt követő években is jelentős lesz majd. Ugyanez a kockázat vonatkozik a mandulára, szilvára és őszibarackra is, amelyeket széles körben termesztenek DK- és DNY-Európában (Janse and Obradovic, 2010). Ismeretes, hogy a rekombináció elősegíti az *X. fastidiosa* evolúcióját és az új gazdanövényekhez való alkalmazkodását, így a jövőben számíthatunk új törzsek és alfajok megjelenésére is világszerte (Denancé *et al.*, 2019).

A *X. fastidiosa* fertőzési mechanizmusának részletei 75 évnyi kutatómunka után váltak csak ismertté az EPG-vizsgálatok (elektromos penetrációs görbe) megjelenésével és terjedésével, így a kabócákat vizsgálva tudták tanulmányozni a baktérium inokulációjának folyamatát. Az elektropenetrográfia az egyik legmegfelelőbb módszer a szűrő-szívó szájszervű rovarok viselkedésének vizsgálatára. Különösen hasznos a növényi kórokozók átvitelét végző vektorszervezetek viselkedésének azonosításában. A kapott eredmények az adott kórokozó terjesztésében potenciálisan szerepet játszó vektorfajok összehasonlításához, valamint új vektor- és betegségkezelési eljárások kidolgozásához szolgáltatnak hasznos információt (Backus and Shih, 2020).

## 2.10. A kórokozó kimutatása

A *X. fastidiosa* kimutatása és azonosítása vizuális vizsgálaton, mintavételen, rovarvektorok és növényi anyagok tesztelésének kombinációján alapul (Internet 3).

### Mintagyűjtés

A laboratóriumba szánt mintákat nyáron érdemes gyűjteni, a gyűjtendő növény minta kifejlett, fás rész levéllel. Kerülni kell a fiatal, növekedésben lévő hajtásokat nem sokkal a megjelenésük után, mert kimutatása nehéz a vegetáció elején. Kisméretű növény esetén a teljes növényt fel lehet használni. Ültetvényekben való jelenlétének vizsgálatakor több növényből vesznek mintát és egy kollektív mintaként kezelik. 200-225 vizsgálandó növény esetén, egy minta kollektív legfeljebb 20 g lehet, ez nagyjából 800-900 db levélnyélnek felel meg, tehát növényenként 4 db. (Cruaud *et al.*, 2018; Cornara *et al.*, 2018). Vektorból történő kimutatására, hálózással vagy csapdázással gyűjtik be a *P. spumarius* imágókat, melynek legoptimálisabb a gyűjtési időpontja a nyár végi időszak (Internet 3).

### Laboratóriumi tesztelés

A *X. fastidiosa* izolálásának nehézségei miatt különféle szerológiai és molekuláris diagnosztikai protokollokat validáltak közvetlenül növényi szövetekre vagy rovarvektor-kivonatokra történő alkalmazásra (EPPO, 2019). A szerológiai tesztek csak nagyszámú tünetet mutató növényekről szedett mintákon érdemes elvégezni, vagy olyan tünetmentes növényekről, amelyekben feltehetően magas lesz a baktérium koncentrációja. PCR-en alapuló molekuláris módszerek általában érzékenyebbek és specifikusabbak (Minsavage *et al.* 1994), különösen ajánlott tünetmentes növényekből és rovarvektorokból történő kimutatásra, illetve, ha pontos alfaj meghatározást szeretnénk (EPPO, 2019). Azokon a területeken, ahol a kórokozó jelenléte ismert, egyetlen vizsgálat eredménye elegendőnek tekinthető, de ahol kártevőmentesnek tekinthető a terület, ott legalább két pozitív eredményű tesztre van szükség, mely két tesztnek különböznie kell a mögöttes biológiai elvben, vagy a megcélzott genom szekvenciában. A távérzékelési technikák és a hiperspektrális képalkotó módszerek egyre megbízhatóbbak a fertőzött növények korai felismerésében, különösen a látható tünetek megjelenése előtti kimutatásban (Kumar *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2014). Zarco-Tejada 2018-as publikációjában alátámasztotta, hogy levegőben leképező spektroszkópiával és termográfiával sikeresen feltárható a *X. fastidiosa* jelenléte olajfákban a tünetek megjelenése előtt.

Vektorminták vizsgálatára megfelelő módszer a real-time PCR. A laboratóriumban vizsgálandó minták csökkentésére vektoroknál is lehetséges az azonos fajból származó minták összevonása (Zarco-Tejada *et al.*, 2018). Kisméretű vektorok, mint például a *Philaenus* esetén 1-5 fejlet lehet összevonni, míg nagy vektoroknál (*Aphrophora*, *Cicada*) csupán egyetlen rovarfej használható (EPPO, 2019).

## 2.11. A kórokozó gazdasági hatása

Az Egyesült Államokban azokon a területeken, ahol a *X. fastidiosa* természetes körülmények között előfordul (Mexikói-öböl partmenti sík területei) a *Vitis vinifera* és a *Vitis labrusca* termesztésbe vonása nem volt kivitelezhető, mert nagyon gyorsan megfertőződtek volna, tekintve a terjedés gyorsaságát természetes populációkban (Internet 4). Következésképpen a *Vitis rotundifolia* szelekciói és speciális nemesített hibridek vehettek részt a termesztésben. Amerika trópusi részein ugyanez volt tapasztalható. A Pierce betegség tehát az amerikai szőlőtermesztés egyik fő akadálya volt az Egyesült Államokban és Amerika trópusi éghajlatú területein (EFSA, 2015a). Csak Kaliforniában a *X. fastidiosa* által okozott szőlőtermés-vesztés - beleértve a tőkevesztés és újratelepítések költségeit - átlagosan 56,1 millió USA dollárt jelent évente (bor, csemegeszőlő, mazsola). Ezen túlmenően a faiskolák, citrustermesztők, kormányzati szervek évente további 48,3 millió USA dollárt költenek a *H. vitripennis* populációjának korlátozására, összesen tehát ez az összeg 104,4 millió USA dollárt jelent (Internet 3).

Ezzel szemben az őszibarackon megjelenő PPD nem pusztítja el a fákat, viszont szignifikáns csökkenés tapasztalható a gyümölcsök számát és méretét illetően. A betegség rendkívül nagy gondot okozott az Egyesült Államok délkeleti területein az 1940-es években. Ekkor az 5 éves ültetvényeket gyakran 50%-ban fertőzöttnek találták, az 5 évnél idősebbeket pedig teljesen fertőzöttnek (Wells *et al.*, 1987). Habár, ma már hatékony védekezési módszerek rendelkezésre állnak (inszekticidek vektorok ellen, fertőzött fák eltávolítása, ültetvény körüli vadon élő gazdanövények herbicides kezelése), magas fokú védekezési hatékonyságot tesznek lehetővé, mégis vannak olyan területek, ahol a mai napig nagyon magas az előfordulása (Internet 3).

Roistacher a citrusfélék tarka klorózisát „az édes narancs legpusztítóbb betegségeként” írta le. Brazília déli hatalmas területein nagyon gyorsan és ellenőrizhetetlenül terjedt az ezredforduló környékén. 2000-re becslések szerint 200 millió édes narancsfa 40%-a volt fertőzött a baktériummal, melynek következményeként számos termelő áttért narancsról mangótermesztésre (Wells *et al.*, 1987; Internet 3).

Argentínában a kórokozó 500 000 szilvafát pusztított el 1935 és 1940 között, melyet országos jelentőségű járvánnyként tartották számon, az okozott jelentős gazdasági kár tekintetében (EFSA, 2015a).

Kaliforniában a leandert tájképi elemként, autóutak szegélyezőjeként használják, tekintve ellenállóképességét a szélsőségesen meleg, száraz időjárással szemben. A közterületi leanderek *X. fastidiosa* fertőzésének következtében kialakuló gazdasági kárt 125 millió USA dollárra becsülték 1997-ben, ez magába foglalja az elpusztult növények pótlásának költségeit is (EFSA, 2015a).

Olajfák tekintetében legsúlyosabb járványszerű megjelenésre az olaszországi Pugliában történt. 2013-ban izolálták először a Gallipoli önkormányzat területén, de akkorra már a fertőzési gócpont 8000 ha területű volt. Ettől kezdődően a fertőzés átlagosan havonta 2 km-t halad, mára elérte Monopoli (Bari) tartományt, amely 140 km-re található Gallipoltól. Becslések szerint 2019-ben Lecce, Brindisi és Taranto tartományokban körülbelül 11 millió növény fertőződött meg 50 000 ha-os területen. A gazdasági kárt, amit a kórokozó okozott 1,2 milliárd

euróra becsülik, ez magába foglalja a termő ültetvényekben és a csemetekertekben okozott gazdasági kárt. Mindez nagyon nagy közvetett hatással bírt bármely növényfaj exportjára Olaszországból. Nem utolsó sorban, a Salento-félsziget tájképi és mediterrán kulturális örökségében okozott kár felbecsülhetetlen (Internet 3).

## 2.12. Védekezési lehetőségek

A *X. fastidiosa* által okozott növénybetegségek miatti gazdasági veszteséget évente több milliárd dollárra becsülik. A kórokozó fertőzése nyomán kialakuló betegségek előfordulásának és elterjedésének hatékony szabályozására három fő területen zajlanak különböző kutatások; 1. a kórokozó terjedését elősegítő rovar vektorok korlátozása, 2. a kórokozó és a gazdanövények közötti jelátviteli folyamatok tisztázása és megértése, illetve 3. a baktérium szaporodásának gátlása a gazdanövényben. Mivel a kolonizáció a szállítószövetek közül a farészre korlátozódik, a kutatók különös figyelmet fordítanak azokra a xilém-lokalizációjú kisméretű molekulákra, amelyek potenciálisan gátolhatják a kórokozó növekedését és mozgását a növényben. Ilyen kis molekulák a szőlő esetében például aminosavak, peptidok, szerves savak és kis molekulatömegű másodlagos metabolitok (Maddox *et al.*, 2010).

Az európai szőlőben rezisztencia alig, vagy egyáltalán nincs jelen. A vektorok elleni védekezés sem bizonyult kellően hatékonynak az Egyesült Államokban. A növények optimális kondícióban tartását célzó technológiai gyakorlatok fontosak, de nem elégségesek, az *avirulens* törzsekkel való biotechnológiai kutatómunka pedig még gyerekcipőben jár (Janse and Obradovic, 2010).

A *X. fastidiosa* elleni védekezés különböző módszereken alapul, különböző célpontokkal: vektor, baktérium, vektor és baktérium, gazdanövények, melyek a kórokozó rezervoárjaiként funkcionálnak. A rovarvektorok elleni védekezési stratégiában figyelembe kell venni a vektor és kórokozó közötti kölcsönhatásokat, elsősorban a transzmissziós jellemzőket. A gazdanövényeknél és tápnövényeknél számításba kell venni a környezeti tényezőket, nevezetesen az inokulum forrásait és a terjedés típusát (primer, vagy szekunder) (Almeida *et al.*, 2005; Lopes *et al.*, 2016). Már létezik kidolgozott védekezési stratégia, amely a jelenlegi rendelkezésre álló információkon alapul. Amennyiben új ismeretek válnak elérhetővé, mindez valószínűleg fejlődni fog. Legfontosabb cél a *P. spumarius* (tajtékos kabóca) populációsűrűségének csökkentése és további terjedésének megakadályozása, mivel a kórokozó elsődleges és másodlagos terjedését nagy valószínűséggel ez a vektorfaj imágója biztosítja. A vektorszervezet gyérítése során hatékony hatóanyagok minősültek a neonikotinoidok közül az acetamiprid, és a piretroidok közül a deltametrin (Dongiovanni *et al.*, 2018). Ám a nimfák ellen a buprofezin és spirotetramat, mint növekedésszabályzó hatóanyagok alacsony hatékonyságot mutattak. Korábbi adatok arra utalnak, hogy a citrusolaj hatékonyabbnak bizonyult, mint a piretroidok, azonban egyik termék sem mutat perzisztenciát. A neonikotinoidok és piretroidok jelentős mértékben csökkentik a nimfák számát a kezelt növényeken. Az EPPO régióban antibakteriális készítményeket nem használnak a növényeken, ennek oka, hogy ma már nem engedélyezett antibiotikumkészítmény használata a növényvédelem során. A réz, mint a növényvédelmi gyakorlatban általánosan baktréiumok ellen használt hatóanyag, azonban nem alkalmas kuratív használatra a *X. fastidiosa* által fertőzött növények gyógyításában, sem a rovarok általi átvitel

megakadályozására. Ennek ellenére kimutatták, hogy Zn, Cu és citromsav tartalmú vegyületek csökkentik a kórokozó szaporodását olajfa szövetekben (Scortichini *et al.*, 2018).

Egy másik szelektív és potenciális szabályozási módszer az úgynevezett filmréteg-technológia a vektor gazdanövény szelekciójára. Kaolinnal kezelt szőlőtőkéken a lombzat színezete megváltozik, így a kabócák ritkábban szállnak le, ami a kórokozó terjedésének csökkenését eredményezi. Ez azonban eddigi vizsgálatok alapján olajfáknál nem működik (Puterka *et al.*, 2003).

Ami a biológiai védekezést illeti, jelenleg nagyon kevés információ áll rendelkezésre, ami természetes ellenségek alkalmazását taglalná üzemi védekezésben a kórokozó ellen (Internet 3). Folyamatos gyomirtással jelentősen csökkenthető a vektorpopuláció, Pugliában télen és tavasszal végzett mechanikai gyomirtás közel nullára csökkentette a *P. spumarius* és *N. campestris* egyedszámát az ültetvényekben, mind a fákon, mind az aljnövényzetben (Boscia *et al.*, 2017). Téli talajtakaró növények, főleg perjefélék (*Lolium* spp.) és árpa (*Hordeum vulgare*) szintén csökkentik a vektorpopulációt a területen (Internet 3).

Különböző fokú rezisztenciát és toleranciát figyeltek meg szőlő, citrusfélék, mandula és olajfa néhány egyedénél, így ez a jövőben egy nagyon ígéretes kutatási területnek bizonyul. A 'Leccino' olajfa fajta toleranciát mutatott a *X. fastidiosa* subsp. *pauca* ST53-as törzsére, a fertőzés alacsonyabb gyakorisággal fordult elő és a tünetek súlyossága is alacsonyabbnak bizonyult (Boscia *et al.*, 2017). Az EFSA 2019-es kiadványában több olyan nemzetséget felsorolnak, amelyek esetében tapasztalatok alapján a rezisztens, vagy toleráns státusz megítélhető. A legnagyobb számban fordult elő a vizsgált fajok közül rezisztens vagy toleráns reakció a *Vitis* nemzetség fajai között; *Vitis rotundifolia* és *Vitis vinifera* esetében a leggyakoribb. A *Citrus* fajokban szintén nagyszámú esetet regisztráltak, legtöbb esetben a *Citrus limon* mutatott valamilyen fokú ellenállóképességet a baktériummal szemben. Szintén vannak ellenállóképességet mutató fajok a *Prunus* nemzetségben, úgymint a *Prunus x amygdalo-persica*, vagy *Prunus salicina* (EFSA, 2020). Kaliforniában már a szelekció részeként hamarosan Pierce betegséggel szemben rezisztens/toleráns szőlőfajtákat biztosítanak majd szaporítóanyagként kereskedelmi forgalomban a termesztőknek. *Prunus* és *Citrus* fajoknál még folyik a rezisztenciaforrás keresése (Internet 3).

Végül, de nem utolsó sorban a *X. fastidiosa* elleni védekezés szintén egyik sarokköve a növény jó egészségi állapotban tartása. Minden stresszforrást minimalizálni kell, ami hajlamosítja a fertőzés kialakulását, úgymint aszály, túlkötődés, egyéb más betegségek kialakulásának megelőzése, amelyek gyengíthetik a növényi szervezet természetes védekezési mechanizmusait. A megfelelő metszés, öntözés, tápanyagutánpótlás pozitív hatást eredményeznek ebből a szempontból is (Janse and Obranovic, 2010).

## 2.13. Növényegészségügyi kockázat

1981 és 2017 között az EPPO A1-es listáján rögzítették a baktériumot, ez a szabályozásra javasolt karantén kártevők listája. 2017-ben azonban már az A2-es listára került át, illetve 2019-ben az új növényegészségügyi jogszabály keretében felkerült az Európai Unió kiemelt károsítóinak listájára (Internet 3).

A *X. fastidiosa* subsp. *pauca* ST53-as és a *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* különböző törzseinek behozatala az EPPO régióba magas kockázatot jelent a gazdaságilag fontos termesztett növényeinkre és környezetekre nézve. Különösen a szőlőtörzs megjelenése jelentett és jelent fenyegetést a mai napig, illetve potenciálisan termesztésre alkalmatlanná teheti a szőlőtermő területeket (Internet 3). Az észak-amerikai vektorok nem fordulnak elő az EPPO-ban, de számítanunk kell arra, hogy a későbbiekben európai *Cicadellinae* fajok, például a *Cicadella viridis*, vagy *Cercopidae* fajok átadhatják a baktériumot, ha bejuthatnak európai országok területére (Internet 4). A legfőbb fenyegetést a *X. fastidiosa* gyom- és természetes növényzeten való megtelepedése jelentené, amely fertőzési forrásként szolgálhat ültetvények közelében (Bosso *et al.*, 2016).

Az enyhe telű régiók veszélyeztetettek Európa szerte, azon belül is azok, ahol fő gazdanövényei közül egy vagy több is megtalálható. Ezeken a területeken egyelőre kisebb valószínűséggel fordulnak elő, megtelepedésében korlátozó tényezőként jegyzik a téli hideg időjárást. Egyelőre a fenyegetett országok Európán belül a délebbi melegebb területeken helyezkednek el (Internet 4).

Terjedési modellek már léteznek a baktérium lehetséges terjedési útvonalainak becslésére, ez alapján a következő területeket találják potenciálisan fenyegetettnek: Dél-Portugália atlanti területei, Délnyugat-Spanyolország, Dél-Franciaország, Olaszország, Horvátország tengerparti területei, illetve ezen országok összes szigete és szigetcsoportja. Ezen felül a *X. f.* subsp. *multiplex* alfaj képes lehet északibb megtelepedésre is a többi alfajhoz képest az Európai Unióban, viszont tekintve, hogy a vektorok biológiájától jelentősen függ a megtelepedés, így ez a folyamat nehezen felmérhető (EFSA, 2019).

Különösen nagy veszélyt jelenthet, ha a baktérium különböző populációinak és alfajainak jelenléte térben és időben megegyezik, következésképpen ez lehetővé teheti a rekombináció útján új alfajok, törzsek létrejöttét. Ezen folyamat növelheti olyan patogén törzsek megjelenésének kockázatát, melyek virulensebbek lesznek és új gazdanövényeket is fertőzhetnek. Az efféle kereszteződések valószínűségét nagyban befolyásolja, hogy a gazdanövénykör mennyire átfedő, minél nagyobb az átfedés, annál valószínűbb ilyen események bekövetkezése (Internet 3).

### Növényegészségügyi intézkedések

A leghatékonyabb módja, hogy a kórokozó ne juthasson be olyan területekre, amelyek még nem fertőzöttek, a lehető legszigorúbb növényegészségügyi intézkedések bevezetése. Magába foglalják az import növényanyagok, potenciális gazdanövények egészségügyi állapotának és a vektorok jelenlétének vizsgálatát különösen gyümölcsstermő ültetvényekben és faiskolákban. A betegség minél korábbi azonosítása, az új fertőzési gócpontok felismerése és megsemmisítése döntő fontosságú. Az EU tagállamok esetében a

növényegészségügyi intézkedéseket az EU 2015/789-es határozata részletezi, annak érdekében, hogy a tagállamok megakadályozzák a kórokozó bejutását és terjesztését országon belül és a tagállamok között (EU, 2015). Tekintve a súlyos fenyegetést, az EPPO tagországaiba tilos szőlő, citrusféle és kávé növényt termesztési céllal behozni olyan harmadik országból, ahol a *X. fastidiosa* igazoltan előfordul. Ezen felül számos ország előírja, hogy a fertőzött harmadik országból származó ültetésre szánt gazdanövényfajok, vagy kórokozótól mentes területen, vagy védett körülmények között nevelhetők tovább, illetve export előtt vizsgálni kell a *X. fastidiosa* jelentését a növényekben. Egyes gazdanövények esetében, mint például a szőlő ültetésre szánt szaporítóanyagánál hatékonynak bizonyult a forró vizes kezelés (50°C-on 45 percig) a fertőzött területről érkező ültetési anyag fertőtlenítésére, vagy a másik lehetőség a vektoroktól izoláltan növényházban való nevelés (EFSA, 2015). Az EPPO javaslata szerint, a termesztőknek saját területükön rendszeres vizsgálat elvégzése ajánlott a *X. fastidiosa* jelenlétére, az Európai Unió területén minden államnak külön éves felméréseket kell végezni és annak megfelelően meg kell határozni a gazdanövények listáját. A betegség terjedési sebességére vonatkozó feljegyzések alapvető fontosságúak a vizsgálandó terület kiterjedésének szempontjából, a terjedés lekötésére léteznek modellek is, melyek megkönnyíthetik a döntéshozatalt. Becslések szerint az átlagos rövidtávú terjedés 150 m, a hosszútávú terjedés mediánja pedig 10 km évente, ezt számos tényező befolyásolhatja, úgymint a gazdanövényfajok denzitása, száma, térbeli eloszlása, rovarvektor fajok abundanciája, mobilitása és sajátos jellemzőik (EFSA, 2019A). A *X. fastidiosa* új megjelenése esetén felszámolási vagy izolálási intézkedéseket kell alkalmazni, melyek magukba foglalják a fertőzött növények és környezetükben található potenciális fertőzési források megsemmisítését, a gazdanövények, kórokozó és vektorok mozgásának korlátozását. Egyelőre belátható, hogy fertőzött területen egyetlen felszámolási intézkedés nem bizonyul elegendőnek (Internet 3).

### **Hazánkban a NÉBIH felhívása**

Magyarországon a mindenkorai Európai szabályozások vannak érvényben egy még be nem hurcolt karantén kórokozó kockázatának csökkentése érdekében. A NÉBIH felhívásban tette közzé, hogy az Európai Unió Élelmiszerbiztonsági Hatósága (EFSA) 2015-ben megjelent 2005/789/EU határozatában foglaltak szerint kell eljárni minden európai tagállamnak, köztük Magyarországnak is. A tagállamok mindegyike jelentési kötelezettséggel bír a *Xylella fastidiosa* megjelenését illetően. Amennyiben a kórokozó megtalálására került sor, szigorú felszámolási intézkedések keretein belül nem csak a fertőzött növényt, de annak 100 méteres környezetében minden növényt el kell pusztítani. Harmadik országból csak abban az esetben hozható be bármilyen növényanyag, ha az adott ország nyilatkozatban vállalja, hogy területei teljesen vagy részben mentesek a baktériumtól. Ha egy állampolgárnak tudomásmára jutott, vagy gyanú áll fenn a kórokozó itthoni jelenlétét illetően, értesítenie kell a növényegészségügyért felelős hatóságot, Magyarország esetében ez a NÉBIH (Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal) (Internet 5).



### 3. ANYAG ÉS MÓDSZER

#### 3.1. A vizsgálat helye, ideje

A *Xylella fastidiosa* kimutatása során végzett laboratóriumi vizsgálatok a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Növényvédelmi Intézetének Növénykórtani Laboratóriumában zajlottak 2022-2023 között. A mintagyűjtés 2021 és 2023 között történt vegetációs időszakban, különböző időpontokban, az ország különböző pontjairól, a kórokozó különböző gazdanövényfajairól.

#### 3.2. A vizsgálat anyaga

##### 3.2.1. A gyűjtött minták

Vizsgálataink során 13 potenciális gazdanövényfaj 82 mintáit gyűjtöttük. Magyarország különböző területeiről származnak, főként házi kerti, közterületi és kertészetekben vásárolt, ajándékba kapott növényekről szedett mintákkal dolgoztunk. Vizsgált növényfajok: *Citrus x aurantium*, *Citrus aurantifolia*, *Citrus limon*, *Citrus medica*, *Coffea arabica*, *Gaultheria procumbens*, *Laurus nobilis*, *Nerium oleander*, *Olea europaea*, *Papaver somniferum*, *Prunus laurocerasus*, *Poncirus trifoliata*, *Tripleurospermum perforatum*, *Vaccinium myrtillus*, *Vitis vinifera* (1. melléklet). Az élő növényeken gyanús, *Xylella fastidiosa* kórokozóra jellemző tünetek jegyei is több növény esetében megfigyelhetők voltak (9. ábra), illetve feltételezve a látens jelenlétet, potenciális gazdanövényfajok tünetmentes egyedeinek növénymintáit is használtuk.



9. ábra: Gyűjtéshez felhasznált növények a gyűjtés pillanatában (balról jobbra: kávé, leander, mandarin)  
(forrás: Szabó, 2022)

### 3.2.2. DNS-kivonáshoz felhasznált anyagok, eszközök

DNS kivonás során felhasznált anyagok:

- Lizispuffer: 100mM Tris-bázis (pH 8.0), 50 mM EDTA, 1,5 M NaCl, 3% CTAB, 2% vízdíszítő polivinil pirrolidon (PVP)
- 4%  $\sigma$ -merkaptoetanol
- Izoamil-alkoholos kloroform: kloroform : izoamil-alkohol aránya 24:1
- 5M K-acetát (pH=4,8) ecetsavra 5 M
- 3M Na-acetát
- izo-propanol
- 70%-os etanol
- steril desztillált víz
- kvarchomok

DNS kivonás során felhasznált laboratóriumi eszközök: olló, mérleg, roncsolórugó, dörzsmozsár, 2 ml-es Eppendorf csövek, 1,5 ml-es Eppendorf csövek, termosztát (65 °C-os), centrifuga, Vortex, szárítógép, pipetták és különböző méretű pipettahegyek.

### 3.2.3. PCR során felhasznált eszközök, kitek

A kórokozó molekuláris vizsgálataihoz Applied Biosystem 9700 típusú PCR-készüléket használtunk a DNS szakaszaink felszaporítására. Az amplifikációt követően a PCR termék tisztítását a Roche Diagnostics GmbH által gyártott High Pure PCR Product Purification Kittal végeztük a gyártó utasításai szerint.

### 3.2.4. Gélelektroforézis során felhasznált anyagok, eszközök

A DNS kivonás sikerességét és a PCR termékeket ECOSafe (Biocenter) festék hozzáadásával készített, 1%-os agaróz gélben futtattuk, vízszintes mini elektroforézis készülékben (140 V, 90 mA), 1%-os TBE pufferben (12,11 g Tris; 5,135 g bórsav; 0,372 g EDTA; 1000 ml desztillált vízben).

## 3.3. A vizsgálat módszere

### 3.3.1. Minták gyűjtése és előkészítése

A mintákat olyan növényekről gyűjtöttük, melyeken egyfelől a *X. fastidiosa* jellegzetes tüneteit véltük felfedezni. Emellett tünetmentes növényekről származó mintákat is használtunk, feltételezve a látens fertőzést. Levélmérettől függően 5-10 db leveles hajtást, esetenként fás részeket is gyűjtöttünk. Minden növényről származó mintát külön zacskóban tároltunk, megjelölve azon a növényfajt, gyűjtés helyét és idejét. Amennyiben a minta szedése, előkészítése és a DNS kivonás nem ugyanazon napra esett, a mintákat felhasználásig fagyaszttóban -20 és -70 C° fokon tartottuk.

A mintákat a DNS kivonás előtt fertőtlenítettünk 70%-os alkoholban, majd fertőtlenített ollóval kivágtuk a levélereket. A levélér mellett levéllemezről és fás részből (vesszőből) is végeztünk DNS-t kivonást, feltételezve, hogy a különböző növényi részekben eltérő a kórokozó koncentrációja és jelenléte. A fás részt fertőtlenített szike

segítségével daraboltuk, hántottuk. Egy növényi mintából 0,7-1 g-ot mértünk ki, de minden mintából többet készítettünk elő, hogy indokolt esetben megismételhető legyen a DNS kivonás.

### 3.3.2. DNS kivonás CTAB módszerrel

A DNS kivonás során három módszert alkalmaztunk:

1. Minsavage és társai 1994-es publikációjában részletezett protokollt használtuk az első 14 minta esetében (Minsavage *et al*, 1994).

A vizsgálandó növényi anyag a friss központi levélér, levélnyel, levél alapi része, vagy fás részek. 0,5-1 g-ot mértünk ki minden friss növényi mintából. A feltüntetett mennyiség  $\frac{1}{4}$ -ére van szükség, ha liofilizált a felhasznált növényanyag. A megfelelő Eppendorf csőbe raktuk, majd 5 ml CTAB puffert adtunk hozzá, kézzel homogenizáltuk. Az extraktumból 1 ml-t átvittünk 1,5 ml-s Eppendorf csőbe, majd 65°C-on 30 percig melegítettük. 16000 rpm/5 percig centrifugáltuk. 1 ml felülúszót átvittünk új 2 ml-s Eppendorf csőbe, az interfázison lévő rész nélkül. 1 ml izoamilalkoholos kloroform oldatot adtunk hozzá, majd összeráztuk. Centrifugáltuk 16000 rpm/10 percig. 700  $\mu$ l felülúszót pipettával leszedtünk, átvittük 1,5 ml-s Eppendorf csőbe és 490  $\mu$ l hideg 2-propanolt adtunk hozzá. Kétszer fejre fordítva összekevertük, -20°C-on inkubáltuk 20 percig. Ezután centrifugáltuk a csöveket 16000 rpm/20 percig, miatt a pellet megjelent. Átmostuk 1 ml 70%-os etanollal, majd ismét centrifugáltuk 16000 rpm/10 percig. Az alkoholt leszívtuk a pelletről, szárítóban kiszárítottuk, utána visszaoldottuk 100-150  $\mu$ l desztillált vízben.

2. A 15. mintától Xu és társai 2004-es publikációjában részletezett protokollt vettük alapul (Xu *et al*, 2004).

2 cm<sup>3</sup> növényi mintát (levélér) közvetlenül 2 ml-es Eppendorf csőben roncsoljuk, amit előzőleg folyékony N<sub>2</sub>-be helyezünk. A merkaptotanol ennél a lépésnél adagolandó hozzá a lizispufferhez. 1 ml lizispuffert adunk hozzá, majd többszöri keverés (invertálás) mellett 30 percig 65°C-on tartjuk vízfürdőben. A mintákat 10 percenként átforgatjuk. 800  $\mu$ l izoamilalkoholos kloroform oldatot adunk hozzá és intenzív rázással megismételjük az extrakciót. Centrifugáljuk a csöveket 8000 rpm/5 percig. A művelet vegyi fülkében végzendő. 750  $\mu$ l felülúszót (interfázison lévő szemét nélkül) átviszünk 1,5 ml-es Eppendorf csőbe, majd hozzáadunk 750  $\mu$ l izopropanolt és 80  $\mu$ l 3M Na-acetátot. Mérési sorrend: 1. Na-acetát, 2. izopropanol. Finom kézi homogenizálás után 20-30 percig szobahőmérsékleten hagyjuk állni. A mérést vegyi fülkében végezzük. Teljes fordulaton, 13000 rpm/8 percig centrifugáljuk, a felülúszót óvatosan leöntjük. A pelletet kétszer átmoszuk teljes térfogat (1,5 ml) 70%-os etanollal, a mosások között 13000 rpm/1 perc centrifugálást végzünk. A maradék etanolt leszívjuk 0,2 ml-es pipettaheggyel, vigyázva, hogy a pellet ne kerüljön bele. Nyitott tetővel 10-20 percig szárítjuk laminár alatt, majd 30  $\mu$ l desztillált vízben visszaoldjuk. -20°C-on ebben a formában tárolható rövidebb ideig, néhány hétnél hosszabb ideig -80°C-on tárolandó.

3. A későbbiekben Xu *et al*. (2004) átdolgozott protokollját, néhány módosítással alkalmaztuk, igazítva a laboratóriumi felszereltséghez és bízva a vizsgálati módszer sikerességében.

Minden mintából 0,7 g-ot használtunk fel. A vizsgált mintákat feldaraboltuk, majd jégen dörzsmozsárban, kvarchomok jelenlétében eldörzsöltük (10. ábra). Dörzsölés közben a mintákhoz 800  $\mu$ l lízispuffert pipettáztunk. A minták állagától függően háromszor vagy négyszer is megismételtük a puffer hozzáadását (200-300  $\mu$ l), hogy



10. ábra: Gyűjtött növényanyag eldörzsölése dörzsmozsárban (forrás: Szabó, 2022)

könnyen önthető legyen. Addig folytattuk a dörzsölést, amíg homogén állagú nem lett. A mintákhoz elszívó alatt 120  $\mu$ l merkaptotetanolt adtunk hozzá, majd a növényi homogenizátumot 2 ml-es Eppendorf csövekbe öntöttük át, figyelve, hogy maradék szilárd növényanyag ne kerüljön bele. A legtöbb mintát két Eppendorf csőbe töltöttük, de néhány esetben három csőre is szükségünk volt. A homogenizátumokat 30 percig 65°C-on termosztátban tartottuk, ezalatt kétszer (11. ábra), 10 percenként intenzíven homogenizáltuk Vortex segítségével. Hozzáadtunk 100  $\mu$ l 5M K-acetátot és 800  $\mu$ l izoamilalkoholos kloroform oldatot, majd kézzel intenzíven homogenizáltuk. Mérési sorrend: 1. K-acetát, 2. kloroform. A csöveket 8000 rpm/5 percig centrifugáltuk. A teljes felülúszót (800-850  $\mu$ l-t) 100  $\mu$ l-enként új 2 ml-es Eppendorf csőbe mértük át. Hozzáadtunk 800  $\mu$ l izoamilalkoholos kloroform oldatot, kézzel intenzíven homogenizáltuk, majd ismét 8000 rpm fordulaton 5 percig centrifugáltuk.



11. ábra: A minták termosztátba 65°C-ra helyezve (forrás: Szabó, 2022)

750  $\mu$ l felülúszót, szintén 100  $\mu$ l-enként átvittük új 1,5 ml-es Eppendorf csövekbe az interfázison lévő rész kivételével. 80  $\mu$ l 3M Na-acetátot, majd 750  $\mu$ l izo-propanolt adtunk hozzá. Finoman összekevertük, amíg homogén állagú nem lett, majd 30 percig állni hagytuk szobahőmérsékleten.

A mintákat teljes fordulaton 13 000 rpm/8 percig centrifugáltuk. A felülúszót óvatosan leöntöttük. A pelletet kétszer átmostuk teljes térfogat (1,5 ml) 70%-os etanollal. Fás részekből származó minták esetében háromszori átmosást alkalmaztunk. A mosások között 13 000 rpm/1 perc centrifugálást végeztünk. A maradék etanolt 0,2 ml-es hegyes pipettavéggel leszívtuk a pelletről. A mintákat nyitott tetővel 20 percig géppel szárítottuk, majd 30 µl desztillált vízben visszaoldottuk.

### 3.3.3. PCR – Polymerase Chain Reaction

A DNS kivonás után a molekuláris vizsgálatot két génszakaszra a 16S rRNS génre (Osborn *et al.*, 2000) és az RNS polimeráz szigma faktorra (Minsavage *et al.* 1994; Loconsole *et al.* 2014) vizsgáltuk. A 16S rRNS és az RNS polimeráz szigma faktor gén PCR paraméterei (1. táblázat):

1.táblázat: A PCR során felhasznált primerek szekvenciái és a PCR paraméterei

Primerek	Ismétlésszám	Folyamat	Hőmérséklet (°C)	Időtartam (p:perc, mp: másodperc)
<b>16S rRNS</b>				
63F (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3')	1x	Elődenaturáció	94	10 p
	35x	Denaturáció	94	15 mp
		Anellálás	55	30 mp
1389R (5'-ACGGGCGGTGTGTACAAG-3')	1x	Elongáció	72	1,5 p
	1x	Utóelongáció	72	10 p
	1x	Hűtés	4	
<b>RNA polimeráz szigma faktor</b>				
RST-31 (5'-GCGTTAATTTTCGAAGTGATTCGATTGC-3')	1x	Elődenaturáció	94	10 p
	35x	Denaturáció	94	30 mp
		Anellálás	55	30
RST-33 (5'-CACCATTCGTATCCCGGTG -3')	1x	Elongáció	72	40 mp
	1x	Utóelongáció	72	7 p
	1x	Hűtés	4	

A PCR-t Mastercycler Eppendorf flexlid típusú PCR készülékben végeztük. A vizsgálat során összemért anyagok- PCR elegy (25 µl össztérfogatra):

- 10 µl steril desztillált víz
- 12,5 µl Dream Taq Master Mix
- 0,5 µl forward primer
- 0,5 µl reverz primer
- 2 µl DNS

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

A kapott PCR terméket a High Pure PCR Product Purification Kit-tel (Roche) tisztítottuk meg, követve a gyártó utasításait. A PCR termékek koncentrációját NanoDrop 2000c spektrofotométerrel mértük meg, majd Hollandiába (Base Clear BV) és Gödöllőre a Biomi Kft-hez küldtük direkt szekvencia meghatározásra. A szekvenciák elemzéséhez az NCBI (National Center for Biotechnology Information) Genebank Blast programját és a CLC Genomics Workbench 6.8.1. (CLC Bio A/S, Cambridge, MA) Software csomagot használtuk.



## 4. EREDMÉNYEK

### 4.1. A gyűjtött minták

A különböző növényfajok gyűjtését és a növények *Xylella fastidiosa* fertőzöttségének vizsgálatait 2021-2023 között végeztük. 13 növényfajról (áfonya, leander, olajfa, citrusfélék, kávécsérje, szőlő, babér) 82 növénymintát gyűjtöttünk az ország különböző pontjairól (1. melléklet). A minták gyűjtése során fontos szempont volt, hogy a *Xylella fastidiosa* okozta tipikus tüneteire hasonló szimptomákat figyeltük meg: klorózis, perzseléses, levélszéli-csúcsi elhalások (12. ábra). A minták másik részénél - feltételezve a látens fertőzést - olyan potenciális gazdanövényekről gyűjtöttünk mintákat, amelyeken nem tapasztaltuk a jellegzetes tüneteket. Egyes fajok esetében a kórokozó tünetek kialakítása nélkül is jelen lehet, ami a kórokozó térbeli és időbeli gyors terjedésében jelentős kockázatot rejt. A gyűjtött minták 60%-a tünetet mutató, 40%-a tünetmentes növényekről, a kórokozó számára potenciális gazdanövényekről származott.



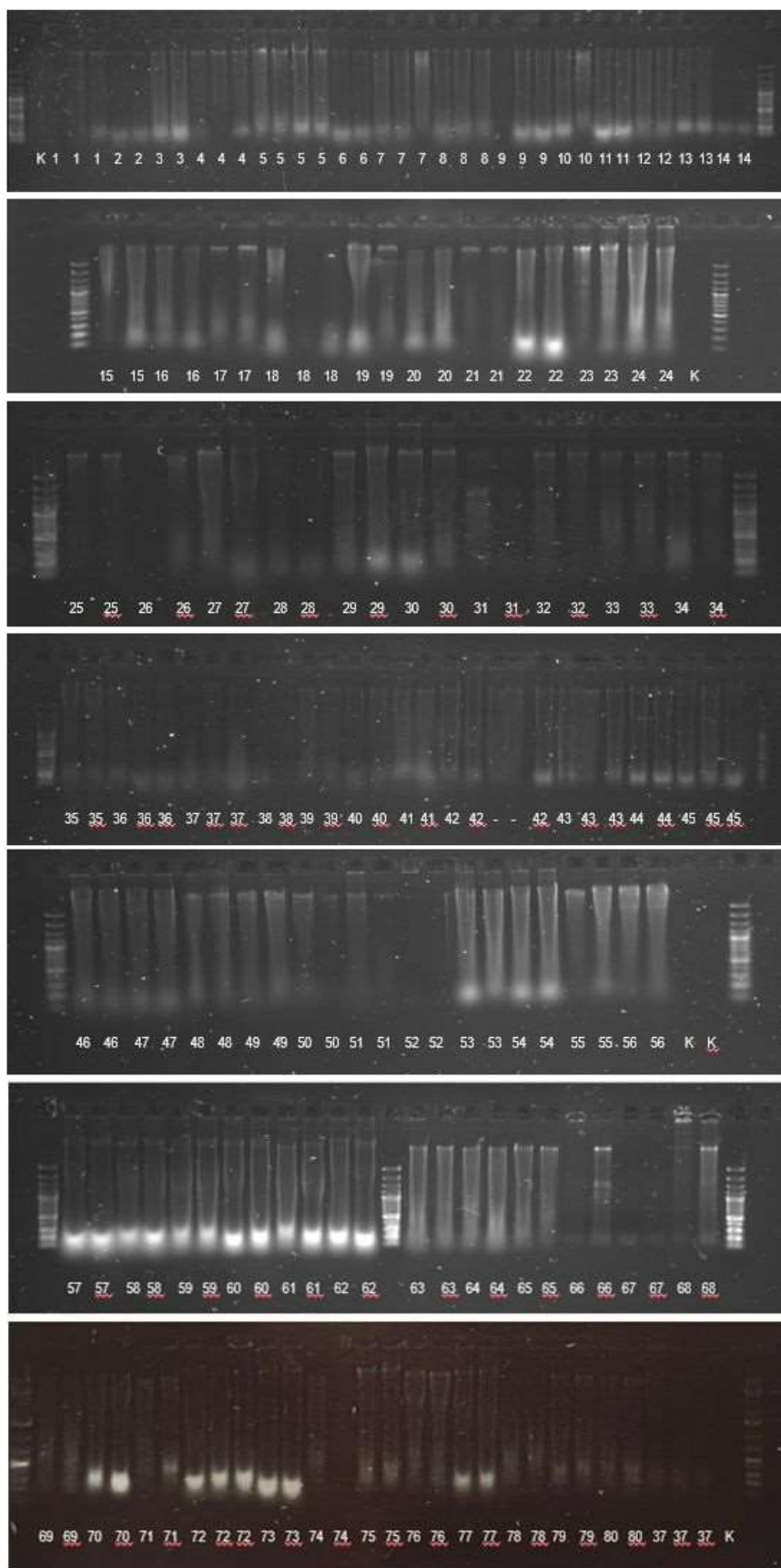
12. ábra. Gyűjtött növényi minták (forrás: Szabó, 2022)

## 4.2. DNS kivonás a gyűjtött mintákból

A DNS kivonás során háromféle módszert alkalmaztunk, mert a vizsgálat kezdetén sajnos a DNS kivonás nem volt igazolható. Az előzetes vizsgálatok során Minsavage és társai 1994-es publikációjában részletezett protokollt használtuk az első 14 mintánál (Minsavage *et al.*, 1994). Azonban nem tapasztaltunk a DNS kivonás ellenőrzése során terméket a vizsgált minták esetében a gélelektroforézis után, így más módszert alkalmaztunk. Ezután a 15. mintától Xu és társai 2004-es publikációjában részletezett protokollt vettük alapul (Xu *et al.*, 2004). Majd végezetül néhány lépést megváltoztattunk, módosítottuk a protokollt (szöveti roncsolás hűtött dörzsmozsárban, kvarchomok használata, merkaptóetanol hozzáadásának időpontja, lízispuffer mennyiségének növelése, pellet többszöri tisztítása), igazítva a laboratóriumi felszereltséghez és bízva a vizsgálati módszer sikerességében. A vizsgálat során a DNS kivonás a legtöbb gyűjtött növényi minta esetében sikeres volt, azonban 6 mintánál még így is negatív eredményt kaptunk, ezekből a mintákból ismételtén megpróbáltuk a DNS kivonást, de csak egy esetben sikerült az ismétlés. A vizsgált 82 növényi mintából 77-ből sikerült a DNS kivonás Xu *et al.*, (2004) módosított, pontosított módszere alapján (13. ábra).

A 13. ábrán látható a vizsgált minták DNS kivonásának ellenőrzése 1%-os agaróz gélben. Minden mintához 2, esetenként 3, vagy 4 zseb is tartozik, attól függően, hogy 0,7 vagy 1 g növényanyagot használtunk fel, illetve hányszor adtunk hozzá lízispuffert a protokoll során.

1-14 mintaadagban áfonya minták esetében (1. melléklet) sem levélrészről, sem levéllemezből nem volt eredményes a kivonás (14-es minta) csak a fás részből (1-es, 2-es, 4-es, 6-os minta) A 18-as minta, mely *Citrus aurantium* növényfajról, Törökbálintról; a 28-as minta, mely leanderről, Nagykőrösről; az 52-es és a 67-es növényanyag áfonyáról Biatorbágyról és Ukrajnából származott, melyeknél nem volt sikeres a DNS kivonás.

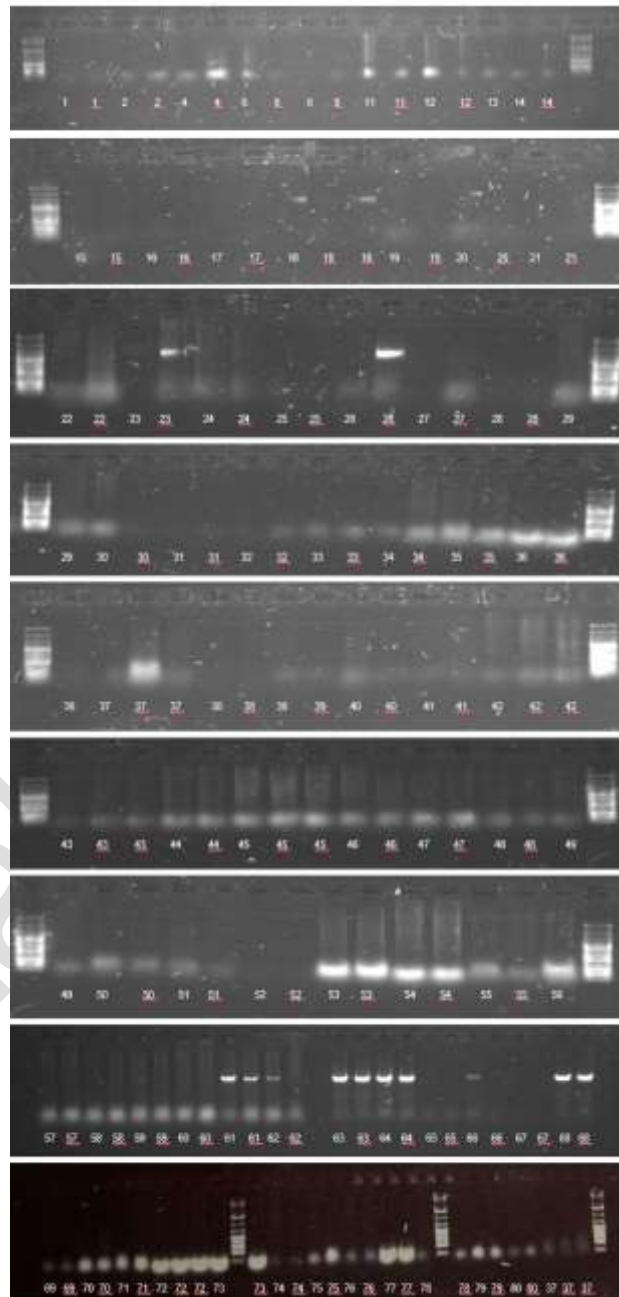


13. ábra: A gyűjtött minták DNS kivonásának ellenőrzése 1%-os agaróz gélben  
(K-vizes kontroll; Marker 1 kb) (forrás: Szabó, 2022)



### 4.3. 16S rRNS génrészlet vizsgálata

A PCR során a 16S rRNS génrészlet régiójára univerzális primerekkel (63F, 1389R) megközelítőleg 1300 bázispár (bp) hosszú szakaszát sikerült felszaporítanunk 10 növénymintában (14. ábra): a 18, a 23, a 26, a 61, a 62, a 63, a 64, a 66, a 68 és a 82-es minták esetében. Ezekben a mintákban a bakteriális eredetű fertőzés feltételezhető volt. A PCR termékek nukleotid szekvenciáját meghatároztuk. A szekvenálás eredményeit az 2. táblázat mutatja.



14. ábra: A vizsgált növényi minták 16S rRNS génrészlet PCR analízise  
(Marker 1 kb) (forrás: Szabó, 2022)

2. táblázat: A 16S rRNS génre vizsgált minták szekvencia eredményei

Minta száma	Növényfaj neve	Legközelebbi azonosságot mutató baktérium
18/1.,3.	<i>Citrus x aurantium</i>	ismeretlen baktérium
23/2.	<i>Laurus nobilis</i>	ismeretlen baktérium
26/2.	<i>Citrus x aurantium</i>	<i>Bacillus sp.</i>
61/1.	<i>Citrus limon</i>	ismeretlen baktérium
61/2.	<i>Citrus limon</i>	ismeretlen baktérium
62/1.	<i>Citrus aurantifolia</i>	citrus kloroplaszt
63/1.	<i>Citrus limon</i>	ismeretlen baktérium
63/2.	<i>Citrus limon</i>	<i>Ochrobactrum tritici</i>
64/2	<i>Citrus limon</i>	ismeretlen baktérium
64/4.	<i>Citrus limon</i>	citrus kloroplaszt
66/1.	<i>Vaccinium myrtillus</i>	ismeretlen baktérium
68/2.	<i>Laurus nobilis</i>	ismeretlen baktérium
68/2.	<i>Laurus nobilis</i>	<i>Heliothrips haemorrhoidalis</i> szimbióta baktériuma
82/2	<i>Vitis vinifera</i>	kloroplaszt

A 16S rRNS génrészlet vizsgálata során, ahol PCR termék keletkezett, a minták a következő növényfajokról kerültek begyűjtésre: *Laurus nobilis*, *Citrus x aurantium*, *Citrus aurantifolia*, *Citrus limon*, *Vaccinium myrtillus*, *Vitis vinefera*. Ezen fajok közül kilenc a gyűjtés pillanatában mutatta a *Xylella fastidiosa* jellegzetes tüneteit, a babér viszont tünetmentes volt (15. ábra). 9 minta előkészítése során levélrészről, és a szőlő esetében fás részből végeztük a DNS kivonást.



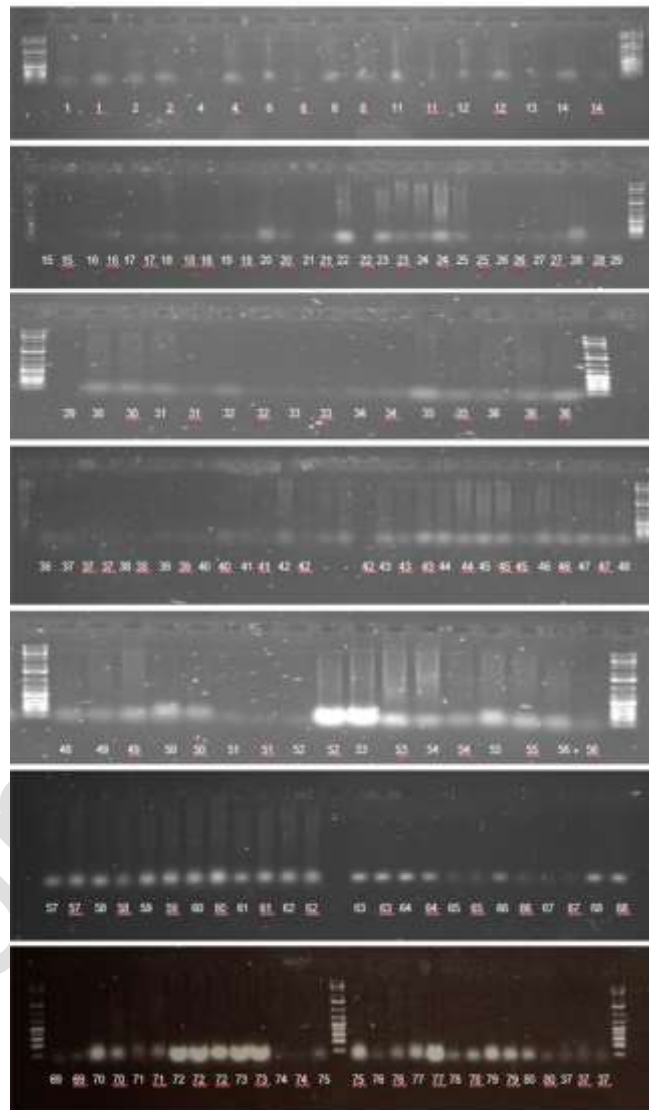
15. ábra: A 16S rRNS génrészlet vizsgálata során pozitív eredményt adó minták gazdanövényei

(forrás: Szabó, 2022)

A nukleotid sorrend meghatározását követően, saját izolátumaink 1300 bp hosszúságú szakaszát összehasonlítva a nemzetközi adatbázis szekvenciáival megállapítottuk, hogy a vizsgált növénymintákban a *Xylella fastidiosa* jelenléte nem igazolt. Eredményeink alapján a primerek ismeretlen baktériumot, növényi kloroplasztot, vagy más szaprofita, antagonista, opportunist baktériumfajt emeltek csak ki.

#### 4.4. RNS polimeráz szigma faktort kódoló régió vizsgálata

A molekuláris vizsgálat során sikeresen vontunk ki DNS-t a gyűjtött növénymintákból. Az RNS polimeráz szigma faktor konzervált régióját kódoló genomi szakasz vizsgálata során az RST-31 és az RST-33 specifikus primerekkel megközelítőleg 733 bázispár hosszúságú termékeknek kellett volna amplifikálódni a polimeráz láncreakció során (Minsavage *et al.*, 1994), azonban a PCR egyik esetben sem adott pozitív eredményt (16. ábra), így feltételezzük, hogy a gyűjtött mintáink egyikében sem volt jelen a *Xylella fastidiosa* baktériumfaj.



16. ábra: A vizsgált növényi minták RNS polimeráz szigma faktort kódoló génrészlet PCR analízise (Marker 100 bp) (forrás: Szabó, 2022)

A DNS kivonat PCR reakcióhoz megfelelő minőségű volt. A PCR reakció végéig - igaz, hogy aspecifikus termék keletkezett - így nem volt gátló anyag a PCR során. A vizsgálatba vont specifikus primer pár nem mutatta a *Xylella fastidiosa* jelenlétét.

## 5. KÖVETKEZTETÉS

Vizsgálataink során a *Xylella fastidiosa* baktériumra jellemző tüneteket mutató és tüneteket nem mutató (látens) –potenciális gazdanövénye- növényfajokat gyűjtöttünk 2021-2023 között. A DNS kivonásra két, már korábban kipróbált, *Xylella fastidiosa* kimutatására igazoltan alkalmas protokollt használtunk (Internet 3). Az 1.-től a 14. mintáig Minsavage és társai 1994-es protokollja alapján végeztük a DNS kivonást. A 15. mintától az utolsóig Xu és társai (2004), általunk néhány lépésben megváltoztatott, protokollját alkalmaztuk. A változtatásokat szükségesnek ítéltük, tekintve a felszereltséget és korábbi laboratóriumi tapasztalatainkat. Eppendorf csőben történő roncsolás helyett dörzsmozsárban dörzsöltük el a növénymintákat. Folyékony N<sub>2</sub> hiányában, fagyasztott minták jégen történő dörzsolését alkalmaztuk, biztosítva ezzel a mihamarabbi homogén állag elérését. Tapasztalataink szerint a fagyasztott növényminta jégen történő eldörzsolése egyszerűbbnek bizonyult, mint a szobahőmérsékletűeké. Ezen kívül lényegi változtatás volt, hogy kvarchomokot is használtunk a minták eldörzsolésekor, segítve ezzel a szöveti roncsolást. A merkaptóetanol hozzáadásának idejét és módját is megváltoztattuk; dörzsolést követően, a lízispuffer hozzáadása és a végső homogén állag elérése után adagoltuk hozzá a mozsárban lévő növényi mintákhoz. Ennek oka, hogy tapasztalataink szerint a merkaptóetanol lízispufferrel keverve dörzsolés közben felhabzik. Ezt követően öntöttük csak Eppendorf csövekbe a mintákat. Fás részekből származó pelletet a 70%-os etanollal nem kétszer, hanem háromszor mostuk át szárítás előtt, a lehető legnagyobb tisztaság elérése érdekében.

6 minta esetében nem járt sikerrel a DNS kivonás, ebből 5 mintánál nem is tudtuk sikerrel megismételni a folyamatot. A 37-es minta ismételt DNS kivonása viszont sikeres volt. Ennek több oka is lehet; a nem megfelelő mértékű szöveti roncsolás, emiatt a DNS nem megfelelő koncentrációja a növényi kivonatban, vagy a protokoll valamely lépésének véletlenszerű kihagyása az adott mintánál.

PCR alapú módszert használtunk, melynek számos szakirodalmi forrás is alátámasztja alkalmasságát a *Xylella fastidiosa* vizsgálatára, tekintve nagyfokú fokú érzékenységet és specifikusságot (Minsavage *et al.*, 1994). A 16S rRNS szekvencia nagy része konzervált, megtalálható minden baktériumban, míg egy kisebb része nagyon változékony, ez utóbbi vizsgálata alkalmas a baktériumfajok elkülönítésére (Fox *et al.*, 1992). A módszer hátránya, hogy nem teszi lehetővé az egymáshoz közel álló fajok elkülönítését, de a prokarióta taxonómiának továbbra is az alapját képezi, mert átfogó képet adnak a taxonómiájukról (Hedegaard *et al.*, 1999; Sproer *et al.*, 1999). Az RNS polimeráz szigma faktort kódoló génre specifikus primerpár pedig alkalmas a *Xylella fastidiosa* gyors kimutatására (Internet 3; EPPO, 2019).

A 16S rRNS gént kódoló primer tíz minta esetében emelt ki eredményt, így ezekben bakteriális eredetű fertőzés jelenlétét igazolta. Ám az RNS polimeráz szigma faktort kódoló génre specifikus primerrel nem találtunk *X. fastidiosa* genomszekvenciát egyik növénymintában sem, melyet utólagosan a szekvenenciaanalízis is megerősített. Véleményünk szerint ezt az eredményt több, protokolltól független körülmény is okozhatta. A legnagyobb valószínűséggel bizonyosan nem volt jelen egyik növénymintában sem a kórokozó. Emellett a gyűjtési időpontok is feltételezhetően befolyásolhatták az eredményt. Szakirodalmi adatok alapján a

növénytípusok gyűjtésének legoptimálisabb időpontja a nyári időszak (Cruaud *et al.*, 2018; Cornara *et al.*, 2018). Gyűjtési időintervallumunk tavasztól őszi elejéig tartott, hiszen potenciális fertőzést mutató növényekről származó tünetes mintát a felfedezés pillanatában leszedtük a növényekről, hogy mindenképpen megvizsgálhassuk. Ezen kívül a vizsgált növények baktérium koncentrációja is befolyásoló tényező lehetett. Az EPPO 2019-es kiadványa szerint nagyszámú tünetet mutató növények és magas baktérium koncentrációval rendelkező növény minta vizsgálata adja a legbiztosabb eredményt (Minsavage *et al.*, 1994; EPPO, 2019). Elképzelhetőnek tartjuk, hogy még ha jelen is volt bármelyik mintában a *Xylella fastidiosa*, nem volt elég magas a koncentráció a kimutatás sikerességéhez.

Mindezek ellenére azonban pozitívan értékeljük a vizsgálati eredményt, hiszen egy karantén kórokozó vizsgálata során a negatív eredményt is pozitívnak tekintjük, növényegészségügyi jelentőségét és hatósági következményeit illetően. Feltétlenül szükségesnek és indokoltnak tartjuk további vizsgálatok elvégzését, illetve a *Xylella fastidiosa* kimutatásával kapcsolatban megszerezhető pontosabb elméleti és gyakorlati tudás szélesítését a hazai laboratóriumokban. Mindenképpen ajánlott egyéb más vizsgálati módszerek, anyagok, ismert elérhető specifikus primerek bevonása, szélesebb potenciális gazdanövénykör vizsgálata, hiszen európai terjedése gyors és jelenleg megállíthatatlan. Kiegészítve vektorszervezetek vizsgálatával a szakirodalom által ajánlott real-time PCR (Zarco-Tejada *et al.*, 2018), és EPG vizsgálatok alkalmazásával (Backus and Shih, 2020), nagyobb valószínűséggel kerül beazonosításra hazánkban. Tekintve gazdasági és növényegészségügyi következményeit, kiemelten fontos napjainkban a szaporítóanyagok és kedvtelésből tartott külföldről érkező növények folyamatos ellenőrzése, melynek felügyeletét és irányítását hazánkban a NÉBIH látja el. A NÉBIH által előírt, karanténkórokozó megjelenése esetén életbe lépő növényegészségügyi intézkedései (Internet 5), a kórokozó igazolt jelenléte esetén kötelezően betartandók.

## 6. ÖSSZEFOGLALÁS

Napjainkban egyre nagyobb jelentőséget és figyelmet kap egy olyan baktérium, amely évről évre egyre több gazdaságilag jelentős és nagy értékű kultúrnövényben gazdasági kárral járó betegséget okoz. A *Xylella fastidiosa* egy xilémekben mozgó és szaporodó baktérium, mely vektorok segítségével terjed egyik növényről a másikra. Jelenleg az EPPO A2-es listáján jegyzik, mint karantén kórokozó. Eleinte főként Amerika északi és déli területein volt jelen, de mára már az Európai Unió számos országának területén megtalálható és komoly károkat okozott termő ültetvényekben. Gazdanövényköre igen széles, jelenleg 595 gazdanövényfaj ismert, amelyeken tüneteket okoz, vagy látens, tünetek megjelenése nélkül van jelen a vízszállító edénnyalábrendszerben. 6 alfaja ismert, melyek olyan kulturális, tájképi és élelmezési szempontból fontos növényfajokban okoznak különböző betegségeket, mint a szőlő, olajfa, citrusfélék, mandula, *Prunus* fajok, leander és egyéb díszkertészeti fajok, faiskolai szaporítóanyagok. Terjedését segíti, hogy számos vadon élő és gyomfajon is fennmarad. Legfontosabb terjedési módja a szűrő-szívó szájszervvel rendelkező kabócák általi terjesztés, melyek nimfa és imágó stádiuma egyaránt képes átadni a kórokozót. A kabócák egyes mediterrán, melegebb éghajlatú területeken képesek átteleltetni a kórokozót, ami jelentős fertőzési forrást és kockázatot jelent a következő év vegetációs időszakára nézve. A látható tünetei közül a legáltalánosabb a levélszáradás, levélen perzselés szerű tünetek, melyek könnyen összekeverhetők abiotikus stressz által okozott tünetekkel, leggyakrabban aszálykárral. Ezen kívül korai lombhullás, vontatott növekedés, későbbi virágzás, termés minőségi romlása is a tünetek közé tartozik. A kórokozó elzárja a xilémekben áramló víz és az abban oldott tápanyagok útját, így teljes növényi részek száradását okozza, míg mindez a teljes növény pusztulásához vezet. Évről évre világszerte újabb és újabb megjelenéseit jelentik az illetékes hatóságok felé, melynek oka a térbeli és időbeli gyors, ellenőrizhetetlen terjedése. Legutóbbi megjelenését 2021-ben Portugáliából jelentették, de már jelen van Olaszországban, Franciaországban, Spanyolországban, illetve számos európai és amerikai ország területén. Ázsiában is regisztráltak fertőzési esetet. Noha Magyarországon még nincs igazolt megjelenése, tekintve gyors terjedési képességét és járványszerű kitéréseit azokban az országokban, amelyekben már jelen van, Magyarországon is számíthatunk a baktérium megjelenésére.

Dolgozatom során a *Xylella fastidiosa* általános jellemzésével, biológiájával, gazdanövényeivel, terjedésével, tüneteivel, külföldi megjelenéseivel, gazdasági jelentőségével és növényegészségügyi kockázatával foglalkoztunk. Ezen kívül 13 gazdanövényfaj 82 növénymintáját vizsgáltuk 2021 és 2023 között, melyek az ország különböző területeiről származtak, és amelyeken a látható tünetek alapján gyanítottuk a kórokozó fertőzését, illetve tünetmentes potenciális gazdanövényeket vizsgálva, feltételeztük a látens jelenlétet. A DNS kivonásra két, már korábban kipróbált, *Xylella fastidiosa* kimutatására igazoltan alkalmas protokollt használtunk. Az 1.-től a 14. mintáig Minsavage és társai 1994-es protokollja alapján végeztük a DNS kivonást. A 15. mintától Xu és társai (2004) módszerét, majd végül Xu és társai általunk néhány lépésben módosított protokollját alkalmaztuk. A változtatásokat szükségesnek ítéltük, tekintve a felszereltséget és korábbi laboratóriumi tapasztalatainkat. A további vizsgálatokat PCR alapú módszerrel végeztük, általános bakteriális fertőzés

igazolására alkalmas 16S rRNS génre univerzális primerekkel és *Xylella fastidiosa* kórokozóra sepcifikus RNS polimeráz szigma faktor konzervált régiójának kódoló gén szakaszát sepcifikus primerekkel. A 16S rRNS génrészlet vizsgálata során kilenc minta esetében igazoltunk bakteriális eredetű fertőzést, ám az univerzális primer nem erősítette meg a *Xylella fastidiosa* jelentését egyik növénymintában sem. Az eredmények alapján elmondható, hogy az alkalmazott PCR protokoll megfelelőnek bizonyult bakteriális eredetű fertőzés vizsgálatára, ám a *Xylella fastidiosa* detektálására vonatkozóan eredmény hiányában nem ítéhető meg a vizsgálati módszer alkalmassága, tekintve a vizsgálat sikerességét befolyásoló számos egyéb tényezőt. A gyűjtött mintáinkban tehát nem mutattuk ki a *Xylella fastidiosa* kórokozó jelenlétét, ugyanakkor az eredmény véleményünk szerint pozitív, hiszen egy karantén kórokozó esetében sokkal nagyobb hangsúlyt kell fektetni a megelőző vizsgálatokra, mint bármely más kórokozó esetében. Főként egy olyan országban, ahol jelenléte még nem igazolt, kulcsfontosságú a minél szélesebb körű elméleti ismeret és gyakorlati tapasztalat megszerzése a kórokozó detektálásában annak érdekében, hogy az illetékes hatóság minél hamarabb tudjon lépni a növényegészségügyi intézkedések elrendelését illetően. További vizsgálatok szükségesek a kórokozó hatékonyabb kimutatására a jövőben (tünetes és tünetmentes gazdanövények vizsgálatba vonása, több primer tesztelése).

A *Xylella fastidiosa* elleni hatékony védekezési módszer a megelőzés, a kórokozó behurcolásának és terjedésének megakadályozása. Mivel nincsenek a gyakorlatban alkalmazható védekezési módszerek, hatósági szabályozásra van szükség növényeink védelme érdekében. Fontos a tünetek ismerete, a betegség korai észlelése, gyanú esetén a hatósági bejelentés. A NÉBIH már korábban többször is felhívta a lakosság figyelmét arra, hogy külföldi utazásaik során vásárolt vagy gyűjtött, bizonytalan forrásból származó növények hazahozatalával ne kockáztassák a növényi kórokozók itthoni elterjedését, a termelőket és forgalmazókat pedig arra kéri, hogy kizárólag növényútlevelel rendelkező termékeket vegyenek át. Igazolt fertőzés esetén a NÉBIH növényegészségügyi intézkedései lépnek életbe, melynek betartása kötelező.

## 7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Karacs-Végh Anitának, a Növénykórtani Tanszék docensének, aki a vizsgálatok és a dolgozat elkészítése alatt támogatott és segítséget nyújtott.

Köszönöm Fodor Attila PhD hallgatónak a laboratóriumban töltött idejét és áldozatos segítségét.

Hálás vagyok, hogy a dolgozat elkészítése során a Növénykórtani Tanszék laboratóriumában lehetőséget kaphattam szélesíteni gyakorlati tapasztalataimat a molekuláris diagnosztika terén.

Távolról is szeretném kifejezni hálámat barátaimnak, rokonaimnak, ismerőseimnek, segítőkész ismeretleneknek, akik voltak olyan kedvesek mintát szolgáltatni vizsgálataimhoz.

Végül, de nem utolsósorban hálás vagyok a családomnak, akik mindent megtettek azért, hogy a képzés és e dolgozat megírása során támogassanak és segítsék utamat.

Szabó Bernadett



## 8. IRODALOMJEGYZÉK

1. **ALMEIDA R.P.P., BLUA M.J., LOPES J.R.S., PURCELL A.H.,** 2005. Vector Transmission of *Xylella fastidiosa*: Applying Fundamental Knowledge to Generate Disease Management Strategies. Entomological Society of America. Vol. 98. No. 6. 776-786.
2. **ALMEIDA R.P.P. AND NUNNEY L.** 2015. How do plant diseases caused by *Xylella fastidiosa* emerge?. The American Phytopathological Society, University of California. California. Plant Disease Vol. 99. No. 11. p. 1457-1658.
1. **ALMEIDA R.P.P., FUENTE, L.DE LA, KOEBNIK R., LOPES J. R. S., PARNELL S., SCHERM H.** 2019. Addressing the New Global Threat of *Xylella fastidiosa*. Phytopathology, Vol. 109. pp. 172-174.
2. **BACKUS E. A. AND MORGAN D.J.W.,** 2011. Spatiotemporal colonization of *Xylella fastidiosa* in its vector supports the role of egestion in the inoculation mechanism of foregut-borne plant pathogens, Phytopathology. Vol. 101. No. 8. pp. 912-922.
3. **BACKUS E.A. AND SHIH H.T.** 2020. Review of the EPG Waveforms of Sharpshooters and Spittlebugs Including Their Biological Meanings in Relation to Transmission of *Xylella fastidiosa* (*Xanthomonadales: Xanthomonadaceae*), Oxford University Press, Entomological Society of America. Journal of Insect Science Vol. 20. No. 6. pp. 1-14.
4. **BODINO N., PLAZIO E., CAVALIERI V., DONGIOVANNI E., RIPAMONTI M., VOLANI S., GILIOLI G., FUMAROLA G., DI CAROLO M., PORCELLI F., BOSCO D.** 2017. Host-plant association and host-shifting of nymphs and adults of *Philaenus spumarius* L. in Italian olive orchards. Proceedings of the 3rd Hemipteran-plant interactions symposium (HPIS), Madrid, Spain, 4-8 June 2017, pp. 36.
3. **BODINO N., CAVALIERI V., DONGIOVANNI C., SALADINI M. A., SIMONETTO A., VOLANI S., PLAZIO E., ALTAMURA G., TAURO D., GILIOLI G., BOSCO D.** 2020. Spittlebugs of Mediterranean Olive Groves: Host-Plant Exploitation throughout the Year. Insects Vol. 11. No. 130. pp. 1-21.
4. **BOSCIA D., ALTAMURA G., CINIERO A., DI CAROLO M., DONGIOVANNI C., FUMAROLA G., GIAMPETRUZZI A., GRECO P., LA NOTTE P., LOCONSOLE G., MANNI F., MELCARNE G., MONTILON V., MORELLI M., MURRONE N., PALMISANO F., POLLASTRO P., POTERE O., ROSETI V., SILDARELLI P., SAPONARI A., SAPONARI M., SAVINO V., SILLETTI MR., SPECCHIA F., SUSCA L.** 2017. Resistance to *Xylella fastidiosa* in different olive cultivars. Informatore Agrario Vol. 73. pp. 59-63.
5. **BOSSO L., RUSSO D., FEBBRARO M. DI, CRISTINZIO G., ZOINA A.** 2016. Potential distribution of *Xylella fastidiosa* in Italy: a maximum entropy model. Phytopathologia Mediterranea, Vol. 55. No. 1. pp. 62-72.
6. **CAVALIERI V., DONGIOVANNI C., TAURO D., ALTAMURA G., DI CAROLO M., FUMAROLA G., SAPONARI M., BOSCO D.** 2018. Transmission of the CODIRO strain of *Xylella fastidiosa* by different insect species. Proceedings of the XI European Congress of Entomology, Naples, Italy, 2-6.
7. **COLETTA-FILHO H.D., FRANCISCO C.S., LOPES J.R.S., OLIVEIRA A.F.DE., DA SILVA L.F DE O.** 2016. First report of olive leaf scorch in Brazil, associated with *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*. Phytopathologia Mediterranea Vol. 55. No. 1. pp. 130-135.

8. **COLETTA-FOLHO H.D., CASTILLO A. I., LARANJEIRA F. F., DE ANDRADE E.C., SILVA N.T., DE SOUZA A.A., BOSSI M.E., ALMEIDA R.P.P., LOPES J.R.S.** 2020. Citrus Variegated Chlorosis: an overview of 30 years of research and disease management. *Tropical Plant Pathology* Vol. 45. pp. 175-191.
9. **CORNARA D., SAPONARI M., ZEILINGER A. R., STRADIS A. DE, BOSCIA D., LOCONSOLE G., BOSCO D., MARTELLI G.P., ALMEIDA R.P.P., PORCELLI F.** 2017a. Spittlebugs as vectors of *Xylella fastidiosa* in olive orchards in Italy. *Journal of Pest Science* Vol. 90. No. 2. pp. 521–530.
10. **CORNARA D., CAVALIERI V., DONGIOVANNI C., ALTAMURA G., PALMISANO F., BOSCO D., PORCELLI F., ALMEIDA R.P.P., SAPONARI M.** 2017b. Transmission of *Xylella fastidiosa* by naturally infected *Philaenus spumarius* (Hemiptera, Aphrophoridae) to different host plants. *Journal of Applied Entomology* Vol. 141. pp. 80-87.
11. **CORNARA D., BOSCO D., FERERES A.** 2018. *Philaenus spumarius*: when an old acquaintance becomes a new threat to European agriculture. *Journal of Pest Science* Vol. 91. pp. 957-972.
12. **CORNARA D., MORENTE M., MARKHEISER A., BODINO N., TSAI C., FERERES A., REDAK R. A., PERRING T. M., LOPES J.R.S.** 2019. An overview on the worldwide vectors of *Xylella fastidiosa*. *Entomologia Generalis*, Vol. 39. No. 3-4. pp. 157-181.
13. **CRUAUD A., Gonzalez A.A., Godefroid M., Nidelet S., Streito J.C., Thuillier J.M., Rossi J.P., Santoni S., Rasplus J.Y.** 2018. Using insects to detect, monitor and predict the distribution of *Xylella fastidiosa*: a case study in Corsica. *Scientific Reports* Vol. 8. pp. 1-13.
14. **CUNTY A., LEGENDRE B., JERPHANION P. DE., DOUSSET C., FORVEILLE A., PAILLARD S., OLIVIER V.** 2022. Update of the *Xylella fastidiosa* outbreak in France: two new variants detected and a new region affected. *Eur J Plant Pathology* Vol. 163. pp. 505–510.
15. **DANCSHÁZY ZS.** 2016. Újabb kihívás a hatóság és a kutatók számára a *Xylella fastidiosa* baktérium megjelenése Európában. *Növényvédelem* 12.
16. **DENANCÉ N., LEGENDRE B., BRIAND M., OLIVIER V., BOISSESON C. DE., POLIAKOFF F., JACQUES M. A.** 2017. Several subspecies and sequence types are associated with the emergence of *Xylella fastidiosa* natural settings in France, *Plant Pathology* Vol. 66. pp. 1054-1064.
17. **DENANCÉ N., BRIAND M., GABORIEAU R., GAILLARD S., JACQUES M.A.** 2019. Identification of genetic relationships and subspecies signatures in *Xylella fastidiosa*. *BMC Genomics* Vol. 20. No. 239. pp. 1-21.
18. **DÉR Zs.** 2005. Kertészeti növények kabóca együttese és szerepük a fitoplazmák terjesztésében. Budapesti Corvinus Egyetem Kertészettudományi Kar, Rovartani Tanszék. Budapest
19. **DI SERIO F., BODINO N., CAVALIERI V., DEMICHELIS S., DI CAROLO M., DONGIOVANNI C., FUMAROLA G., GILIOLI G., GUERRIERI E., PICCIOTTI U., PLAZIO E., PORCELLI F., SALADINI M., SALERNO M., SIMONETTO A., TAURO D., VOLANI S., ZICCA S., BOSCO D.** 2019. Collection of data and information on biology and control of vectors of *Xylella fastidiosa*. EFSA supporting publication 1628E, pp. 102.
20. **DONGIOVANNI C., CAVALIERI V., BODINO N., TAURO D., CAROLO M. DI, FUMAROLA G., ALTAMURA G., LASORELLA C., BOSCO D.** 2018. Plant Selection and Population Trend of Spittlebug Immatures

- (*Hemiptera: Aphrophoridae*) in Olive Groves of the Apulia Region of Italy. *Journal of Economic Entomology*, pp. 1–8.
21. **EFSA** 2015a. Scientific Opinion on hot water treatment of *Vitis* sp. for *Xylella fastidiosa*. *EFSA Journal* 13 (9), 4225, 10 pp.
  22. **EFSA** 2015b. Scientific Opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory, with the identification and evaluation of risk reduction options. *EFSA Journal* 13 (1), 3989, 262 pp.
  23. **EFSA** 2019. Update of the Scientific Opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory. *EFSA Journal* 17(5), 5665, 200 pp.
  24. **EFSA** 2020. Update of the *Xylella* spp. host plant database – systematic literature search up to 30 June 2019. *EFSA Journal* 18(4), 6114, 61 pp.
  25. **EPPO**, 2019. First report of *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* in Portugal. In: EPPO Reporting Service, (No. 2019/017 ). Paris, France.
  26. **EU** 2015 Commission implementing decision (EU) 2015/789 of 18 May 2015 as regards measures to prevent the introduction into and the spread within the Union of *Xylella fastidiosa* (Wells *et al.*). *Official Journal of the European Union* Vol. 125. pp. 36-53.
  27. **FRAZIER N.** 1944. Phylogenetic relationship of the nine known leaf-hopper vectors of Pierce's disease of grape. *Phytopathology* Vol. 34. pp. 1000-1001.
  28. **FOX G.E., WISOTZKEY J.D., JURTSUK P.** 1992. How close is close: 16S RNA sequence identity may not be sufficient to guarantee species identity. *International Journal of Systematic Bacteriology*. Vol. 42. pp. 166-170.
  29. **GIAMPETRUZZI A., SAPONARI M., LOCONSOLE G., BOSCIA D., SAVINO V. N., ALMEIDA P. P., ZICCA S., LANDA B.B., CHANÓN-DÍAZ C., SILDARELLI P.** 2017. Genome-Wide Analysis Provides Evidence on the Genetic Relatedness of the Emergent *fastidiosa* Genotype in Italy to Isolates from Central America. *Phytopathology* Vol. 107, No.7, 816-827.
  30. **GÜLDÜR M.E., CAGLAR B.K., CASTELLANO M.A., ÜNLÜ L., GÜRAN S., YILMAZ M.A., MATERLLI G.P.,** 2005. First report of almond leaf scorch in Turkey. *Journal of Plant Pathology* Vol. 87. No. 3. p. 246.
  31. **HARTUNG J.S., BERETTA J., BRANLSKY R.H., SPISSO J., LEE R.F.** 1994. Citrus Variegates Chlorosis Bacterium: Axenic Culture, Pathogenicity, and Serological Relationships with Other Strains of *Xylella fastidiosa*. *Phytopathology*. Vol. 84, No. 6. pp. 591-597.
  32. **HE C.X., LI W.B., AYREA A.J., HARTUNG J.S., MIRANDA V.S., TEIXEIRA D.C.** 2000. Distribution of *Xylella fastidiosa* in Citrus Rootstocks and Transmission of Citrus Variegated Chlorosis Between Sweet Orange Plants Through Natural Root Grafts. *Plant Disease* Vol. 84. No. 6. pp. 622-626.
  33. **HEDEGAARD J., STEFFENSEN S.A.A., NORSKOV-LAURITSEN N., MORTENSEN K.K., SPERLING-PETERSON H.U.** 1999. Identification of Enterobacteriaceae by partial sequencing of the gene encoding translation initiation factor 2. *International Journal of Systematic Bacteriology*. Vol. 49. pp. 1531-1538.

34. **HILL. B.L. and Purcell A.H.** 1994. Acquisition and Retention of *Xylella fastidiosa* by an Efficient Vector, *Graphocephala atropunctata*. *Phytopathology*. Vol. 85. No. 2. pp. 209-212.
35. **HOPKINS D.L.** 1985. Physiological and Pathological Characteristics of Virulent and Avirulent Strains of the Bacterium that Causes Pierce's Disease of Grapevine. Florida Agricultural Experiment Stations Journal Series Paper 5838. Vol. 75. No. 6. pp. 713-717.
36. **HOPKINS D. AND PURCELL A.** 2002. *Xylella fastidiosa*: cause of Pierce's disease of grapevine and other emergent diseases. *Plant Disease* Vol. 86. pp. 1056-1066.
37. **JANSE J.D. AND OBRADOVIC A.** 2010. *Xylella fastidiosa*: Its biology, diagnosis, control and risks. *Journal of Plant Pathology* Vol. 92. No.1. pp. 35-48.
38. **KUMAR A., LEE W.S., EHSANI R.J., ALBRIGO L.G., YANG C., MANGAN R.L.** 2012. Citrus greening disease detection using aerial hyperspectral and multispectral imaging techniques. *Journal of Applied Remote Sensing* Vol. 6. No. 1. 063542.
39. **LI H., LEE W.S., WANG K., EHSANI R., YANG C.** 2014. 'Extended spectral angle mapping (ESAM)' for citrus greening disease detection using airborne hyperspectral imaging. *Precision Agriculture* Vol. 15. pp.162-183.
40. **LOCONSOLE G., POTERE O., BOSCIA D., ALTAMURA G., DJELOUA, K., ELBEAINO T., FRASHERI D., LORUSSO D., PALMISANO F., POLLASTRO P., SILLETTI M.R., TRISCIUZZI N., VALENTINI F., SAVINO V., SAPONARI M.** 2014. Detection of *Xylella fastidiosa* in olive trees by molecular and serological methods. *Journal of Plant Pathology* Vol. 96. No. 1. pp. 7-14.
41. **LOPES S.A., MARCUSSI S., TORRES S.C.Z., SOUZA V., FAGAN C., FRANÇA S.C., FERNANDES N.G., LOPES J.R.S.** 2003. Weeds as alternative hosts of the citrus, coffee, and plum strains of *Xylella fastidiosa* in Brazil. *Plant Disease* Vol. 87. No. 5. pp. 544-549.
42. **LOPES J. R. S., KRUGNER R., BROWN J.** 2016. Transmission ecology and epidemiology of the citrus variegated chlorosis strain of *Xylella fastidiosa*. In: Brown JK (ed.). *Vector-mediated Transmission of Plant Pathogens*. APS Press, pp. 195-208.
43. **MADDOX C. E., LAUR L. M., TIAN L.,** 2010. Antibacterial Activity of Phenolic Compounds Against the Phytopathogen *Xylella fastidiosa* *Curr Microbiol* Vol. 60. pp. 53–58.
44. **MARTELLI G.P.** 2016. Il punto su *Xylella fastidiosa* e disseccamento rapido dell'olivo. *L'informatore Agrario* Vol. 24. pp. 40-48.
45. **MINSAVAGE G.V., THOMPSON C.M., HOPKINS D. L., LEITE R. M. V. B. C., STALL R. E.,** 1994. Development of a polymerase chain reaction protocol for detection of *Xylella fastidiosa* in plant tissue. *Phytopathology* Vol. 84. No. 5. pp. 456-461.
46. **MORALEJO E., GOMILA M., MONTESINOS M., BORRÀS D., PASCUAL A., NIETO A., ADROVER F., GOST P. A., SEGU G., BUSQUETS A., JURADO-RIVERA J. A., QUETGLAS B., GARCÍA J. D. D., BEIDAS O, JUAN A., VELASCO-AMO M. P., B. LANDA B. B., OLMO D.** 2020. Phylogenetic inference enables reconstruction of a long-overlooked outbreak of almond leaf scorch disease (*Xylella fastidiosa*) in Europe. *Communications Biology*. pp. 1-13.

47. **MÜLLER C., Esteves M.B., Kleina H.T., de Melo Sales T., Liva K.B., Balbinote J., Lopes J.R.S.** 2022. Weeds as alternative hosts of *Xylella fastidiosa* in Brazilian plum orchards. *Journal of Plant Pathology*. Vol. 104. pp. 487-493.
48. **NOALES E.M., BARBÉ S., MONTERDE A., NAVARRO-HERRERO I., FERRER A., DALMAU V., AURE C.M., DOMINGO-CALAP M.L., LANDA B.B., ROSELLÓ M.** 2021. Evidence that *Xylella fastidiosa* is the causal agent of almond leaf scorch disease in Alicante, mainland Spain (Iberian Peninsula). *Plant Disease* Vol. 105. No. 11. pp. 3349-3352.
49. **OSBORN A.M., MOORE E.R.B., TIMMIS K.N.** 2000. An evaluation of terminal restriction fragment length polymorphism (T-RELP) analysis for the study of microbial community structure and dynamic. *Environmental Microbiology* Vol. 2. pp. 39–50.
50. **PURCELL A.H.** 1989. Homopteran transmission of xylem-inhabiting bacteria. Harris KF (ed). *Advances in disease vector research*. Vol 6. Springer, New York, USA, pp. 243-266.
51. **PURCELL A. H. AND FINLAY A. H.** 1979. Evidence for noncirculative transmission of Pierce's disease bacterium by sharpshooter leafhoppers. *Phytopathology* Vol. 69. pp. 393-395.
52. **PUTERKA G. J., REINKE M., LUVISI D., CIOMPERIK M. A., BARTELS D., WENDEL L., GLENN D. M.** 2003. Particle film, surround WP, effects on glassy-winged sharpshooter behavior and its utility as a barrier to sharpshooter infestations in grape. *Plant Health Progress* Vol. 4. p. 1.
53. **SAPONARI M., GIAMPETRUZZI A, LOCONSOLE G., BOSCIA D., SALDARELLI P.** 2019. *Xylella fastidiosa* in Olive in Apulia: Where We Stand. *Phytopathology* Vol.109. No. 2. pp.175-186.
54. **SCHAAD N. W., POSTNIKOVA E., LACY G., FATMI M., CHUNG-JAN CHANG C.** 2004. *Xylella fastidiosa* subspecies: *X. fastidiosa* subsp. *piercei*, subsp. nov., *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* subsp. nov., and *X. fastidiosa* subsp. *pauca* subsp. nov., *Systematic And. Applied Microbiology* Vol. 27. pp. 290–300.
55. **SAPONARI M., LOCONSOLE G., CORNARA D., YOKOMI R.D., STRADIS A. DE, BOSCIA D., BOSCO D.D., MARTELLI G. P., KRUGNER R., PORCELLI F.** 2014. Infectivity and Transmission of *Xylella fastidiosa* by *Philaenus spumarius* (Hemiptera: Aphrophoridae) in Apulia, Italy. *Journal of Economic Entomology*, Vol. 107. No. 4. pp. 1316–1319.
56. **SCORTICHINI M., CHEN J., DE CAROLI M., DALESSANDRO G., PUCCI N., MODESTI V., L'AURORA A., PETRICCIONE M., ZAMPELLA L., MASTROBUONI F., MIGONI D., DEL COCO L., GIRELLI C. R., PIACENTE F., CRISTELLA N., MARANGI P., LADDOMADA F., DI CESARE M., CESARI G., FANIZZI F. P., LORETI S.** 2018. A zinc, copper and citric acid biocomplex shows promise for control of *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* in olive trees in Apulia region (southern Italy). *Phytopathologia Mediterranea* Vol. 57. pp. 48-72.
57. **SIMPSON A.J.G., REINACH F.C., ARRUDA P., ABREU F. A., ACENCIO M., ALVARENGA R., ALVES L.M. C., ARAYA J.E., BAIA G.S., BAPTISTA C.S., BARROS M.H., BONACCORSI E.D., SETUBAL J.C.** 2000. The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. *Nature*. Vol. 406. pp. 151-159.
58. **SPROER C., MENDROCK U., SWIDERSKI J., LANG E., STACKEBRANDT E.** 1999. The phylogenetic position of Serratia, Buttiauxella and some other genera of the family Enterobacteriaceae. *International Journal of Systematic Bacteriology*. Vol. 49. pp. 1433-1438.

59. **SU C.C., CHANG C.J., CHANG C.M., SHIH H.T., TZENG K.C., JAN F.J., KAO C.W., DENG W.L.** 2013. Pierce's disease of grapevines in Taiwan: isolation, cultivation and pathogenicity of *Xylella fastidiosa*. Journal of Phytopathology Vol. 161. No. 6. pp. 389-396.
60. **VÉGH A.** 2020. A *Xylella fastidiosa* (Wells mtsai, 1987) megjelenése és terjedése Európában. Növényvédelem Vol. 81. No. 3. pp. 122-127.
61. **WALIULLAH S., HUDSON O., OLIVER J. E., BRANNEN P. M., JI P., EMRAN A. M.** 2019. Comparative analysis of different molecular and serological methods for detection of *Xylella fastidiosa* in blueberry. PLoS ONE 14(9): e0221903.1-17.
62. **WALIULLAH S., GENOVA D. D., OLIVER J. E., EMRAN A. M.** 2022. Development of a CAPS Marker and a LAMP Assay for Rapid Detection of *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* and differentiation from *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* on Blueberry. International Journal of Molecular Sciences Vol. 23. p 1937.
63. **WELLS J., RAJU B., HUNGH., WEISBURG W., MANDELCO-PAUL L., BRENNER D.** 1987. *Xylella fastidiosa* gen. nov, sp. nov: Gram-negative, xylem-limited, fastidious plant bacteria related to *Xanthomonas* subsp. International Journal of Systematic Bacteriology, 37,136-143.
64. **XU Q., WEN X., DNG X.** 2004. A simple protocol for isolating genomic DNA from chestnut rose (*Rosa roxburghii* tratt) for RFLP and PCR analyses. Plant Molecular Biology Reporter Vol. 22. pp. 301-302.
65. **ZARCO-TEJADA P. J., CAMINO C., BECK P.S.A., CALDERON R., HORNERO A., HERNÁNDEZ-CLEMENTE R. KATTENBORN T., MONTES-BORREGO M., SUSCA L., MORELLI M., GONZALEZ-DUGO V., NORTH P.R.J., LANDA B.B., BOSCIA D., SAPONARI M., NAVAS-CORTES J.A.** 2018. Previsual symptoms of *Xylella fastidiosa* infection revealed in spectral plant-trait alterations. Nature Plants Vol. 4. No. 7. p. 432.

#### Internetes források

Internet 1: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/data-hub/taxonomy/2371/>

Internet 2:

<http://curia.europa.eu/juris/document/document.jsf?jsessionid=8C6364AD5B2FC0A5C02DFC839AA01DE3?text=&docid=178101&pageIndex=0&doclang=HU&mode=lst&dir=&occ=first&part=1&cid=2352276>

Internet 3: <https://gd.eppo.int/taxon/XYLEFA/datasheet>

Internet 4: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/57195#todistribution>

Internet 5: [https://portal.nebih.gov.hu/informaciok/noveny/hivatali/novenyegeszsegugy/novenyegeszsegugy-hivatali/-/asset\\_publisher/4ndba0yRXvQX/content/xylella-fastidiosa-nevu-bakterium-terjedesenek-megakadalyozasarol/nehez-de-fontos-vedekezni-az-amerikai-lepkekaboca-ellen](https://portal.nebih.gov.hu/informaciok/noveny/hivatali/novenyegeszsegugy/novenyegeszsegugy-hivatali/-/asset_publisher/4ndba0yRXvQX/content/xylella-fastidiosa-nevu-bakterium-terjedesenek-megakadalyozasarol/nehez-de-fontos-vedekezni-az-amerikai-lepkekaboca-ellen)

## 9. MELLÉKLETEK

### 1. melléklet: A gyűjtött növényi minták adatai

	<b>Növényfaj</b>	<b>Gyűjtés helye</b>	<b>Gyűjtés ideje</b>
1.	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Ukrajna	2022
2.	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Ukrajna	2022
3.	<i>Papaver somniferum</i>	Soroksár	2021
4.	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Ukrajna	2022
5.	<i>Tripleurospermum perforatum</i>	Soroksár	2021
6.	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Ukrajna	2022
7.	<i>Papaver somniferum</i>	Soroksár	2021
8.	<i>Nerium oleander</i>	Nyíregyháza	2022
9.	<i>Papaver somniferum</i>	Soroksár	2021
10.	<i>Papaver somniferum</i>	Soroksár	2021
11.	<i>Citrus medica</i>	Budaörs	2022.09.05.
12.	<i>Coffea arabica</i>	Budaörs	2022.09.05.
13.	<i>Olea europaea</i>	Budaörs	2022.09.05.
14.	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Ukrajna	2022. 09.
15.	<i>Olea europaea</i>	Biatorbágy	2022.06.10.
16.	<i>Olea europaea</i>	Törökbálint	2022.05.29.
17.	<i>Nerium oleander</i>	Biatorbágy	2022.06.01.
18.	<i>Citrus x aurantium</i>	Törökbálint	2022.05.29.
19.	<i>Nerium oleander</i>	Törökbálint	2022.05.26.
20.	<i>Olea europaea</i>	Törökbálint	2022.05.29.
21.	<i>Nerium oleander</i>	Biatorbágy	2022.05.26.
22.	<i>Poncirus trifoliata</i>	Biatorbágy	2022.09.05.
23.	<i>Laurus nobilis</i>	Budaörs	2022.09.05.
24.	<i>Laurus nobilis</i>	Budapest	2021.08.
25.	<i>Prunus laurocerasus</i>	Hungaroplant	2021.04.12.
26.	<i>Citrus x aurantium</i>	Biatorbágy	2022.09.24.
27.	<i>Nerium oleander</i>	Nagytarcsa	2021.07.20.
28.	<i>Nerium oleander</i>	Nagykőrös	2021.08.20.
29.	<i>Prunus laurocerasus</i>	Normafa, Budapest	2021.04.27.
30.	<i>Nerium oleander</i>	Balatonlelle	2021.07.07.
31.	<i>Prunus laurocerasus</i>	Budapest	2021.04.12.
32.	<i>Prunus laurocerasus</i>	Budapest, Kondori út	2021.04.12.
33.	<i>Nerium oleander</i>	Nyírbátor	2022

34.	<i>Prunus laurocerasus</i>	Budapest	2022.05.05.
35.	<i>Nerium oleander</i>	Zirc	2021.07.21.
36.	<i>Nerium oleander</i>	Olaszország	2022
37.	<i>Nerium oleander</i>	Ercsi	2021.05.20.
38.	<i>Nerium oleander</i>	Nagykőrös	2021.08.20.
39.	<i>Nerium oleander</i>	Pesterzsébet	2021.07.31.
40.	<i>Nerium oleander</i>	Budapest	2021.08.24.
41.	<i>Nerium oleander</i>	Debrecen	2022
42.	<i>Coffea arabica</i>	Budaörs	2022.09.25.
43.	<i>Gaultheria procumbens</i>	Budaörs	2022.09.25.
44.	<i>Gaultheria procumbens</i>	Budaörs	2022.09.25.
45.	<i>Coffea arabica</i>	Dunasziget	2022.10.06.
46.	<i>Nerium oleander</i>	Budapest	2021.09.14.
47.	<i>Nerium oleander</i>	Nyíregyháza	2022
48.	<i>Nerium oleander</i>	Nagykőrös	2021.08.20.
49.	<i>Nerium oleander</i>	Balatonakarattyá	2021.07.14.
50.	<i>Nerium oleander</i>	Nyírszőlő	2021.08.29.
51.	<i>Nerium oleander</i>	Budapest	2022
52.	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Ukrajna	2022
53.	<i>Olea europaea</i>	Budapest	2022.10.07.
54.	<i>Olea europaea</i>	Olaszország	2022.10.07.
55.	<i>Nerium oleander</i>	Olaszország	2022.10.07.
56.	<i>Nerium oleander</i>	Budapest	2022.10.07.
57.	<i>Citrus limon</i>	Biatorbágy	2022.10.12.
58.	<i>Citrus limon</i>	Biatorbágy	2022.10.12.
59.	<i>Citrus limon</i>	Biatorbágy	2022.10.12.
60.	<i>Citrus limon</i>	Biatorbágy	2022.10.12.
61.	<i>Citrus limon</i>	Biatorbágy	2022.10.12.
62.	<i>Citrus aurantifolia</i>	Biatorbágy	2022.10.12.
63.	<i>Citrus limon</i>	Biatorbágy	2022.10.12.
64.	<i>Citrus limon</i>	Biatorbágy	2022.10.12.
65.	<i>Nerium oleander</i>	Biatorbágy	2022.10.12.
66.	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Biatorbágy	2022.10.12.
67.	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Biatorbágy	2022.10.12.
68.	<i>Laurus nobilis</i>	Biatorbágy	2022.10.12.
69.	<i>Olea europaea</i>	Biatorbágy	2022.10.20.
70.	<i>Olea europaea</i> (levéllemez)	Biatorbágy	2022.10.20.



71.	<i>Olea europaea</i> (fás)	Biatorbágy	2022.10.20.
72.	<i>Citrus sp.</i>	Budapest	2021
73.	<i>Citrus limon</i>	Budapest	2022.10.20.
74.	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Ukrajna	2022.10.21.
75.	<i>Vitis vinifera</i>	Budapest	2022.10.20.
76.	<i>Nerium oleander</i>	Budapest	2022.10.21.
77.	<i>Nerium oleander</i> (levél + fás)	Hajdúszoboszló	2022.10.21.
78.	<i>Nerium oleander</i> (fás)	Hajdúszoboszló	2022.10.21.
79.	<i>Nerium oleander</i> (fás)	Nyíregyháza	2022.10.21.
80.	<i>Nerium oleander</i> (fás)	Hajdúszoboszló	2022.10.21.
81.	<i>Vitis vinifera</i> (levélér + levélnyel)	Hajdúhadház	2023
82.	<i>Vitis vinifera</i> (fás)	Hajdúhadház	2023

## NYILATKOZAT

### a diplomadolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Szabó Bernadett

A Hallgató Neptun kódja: RCMWFJ

A dolgozat címe: Különböző növények Xylella fastidiosa fertőzöttségének vizsgálata

A megjelenés éve: 2023

A konzulens tanszék neve: Növénykórtani Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott diplomadolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, s az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a Záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe.

Kelt: 2023.05.03.



Hallgató aláírása


## KONZULTÁCIÓS NYILATKOZAT

A Szabó Bernadett hallgató Neptun azonosítója: RCMWFJ konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a diplomadolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A diplomadolgozatot a záróvizsgán történő védelemre javaslom / nem javaslom<sup>1</sup>.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem\*<sup>2</sup>

Kelt: 2023. 05.08.

  
Dr. Karacs-Végh Anita

---

<sup>1</sup> A megfelelő aláhúzendó.

<sup>2</sup> A megfelelő aláhúzendó.