



**VIDÓCZI HENRIETT**

**A SZELÍDGESZTENYE KÉREGRÁKJA [*CRYPHONECTRIA PARASITICA*  
(MURR.) BARR] A SOPRONI-HEGYSÉGBEN**

**DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS**



**Nyugat-Magyarországi Egyetem**

*Roth Gyula Erdészeti és Vadgazdálkodási Tudományok Doktori Iskola  
Erdei ökoszisztémák ökológiája és diverzitása alprogram*

**Témavezető: Dr. habil. Szabó Ilona**  
*egyetemi tanár*

**SOPRON**

**2005**

**A SZELÍDGESZTENYE KÉREGRÁKJA [*CRYPHONECTRIA PARASITICA*  
(MURR.) BARR] A SOPRONI-HEGYSÉGBEN**

Értekezés doktori (Ph.D.) fokozat elnyerése érdekében,  
a Nyugat-Magyarországi Egyetem Roth Gyula Erdészeti és Vadgazdálkodási Tudományok  
Doktori Iskolája,  
Erdei ökoszisztémák ökológiája és diverzitása alprogramjához tartozóan

Írta:  
Vidóczi Henriett

Témavezető: Dr. habil. Szabó Ilona

Elfogadásra javaslom: (igen/nem) .....  
(alíírás)

A jelölt a doktori szigorlaton .....%-ot ért el,  
Sopron,.....  
a Szigorlati Bizottság elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen/nem)

Első bíráló (Dr. ....)(igen/nem)  
(alíírás)

Második bíráló (Dr. ....)(igen/nem)  
(alíírás)

Harmadik bíráló (Dr. ....)(igen/nem)  
(alíírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján .....%-ot ért el.

Sopron,.....  
a Bírálóbizottság elnöke

A doktori (Ph.D.) oklevél minősítése:.....  
.....  
az EDT elnöke

## *Tartalomjegyzék*

<b>1. KIVONATOK</b> .....	<b>7</b>
<b>2. BEVEZETÉS</b> .....	<b>8</b>
<b>3. A TÉMA SZAKIRODALMÁNAK ÁTTEKINTÉSE</b> .....	<b>10</b>
<b>3.1. A <i>Cryphonectria parasitica</i> és jelentősége</b> .....	<b>10</b>
3.1.1. Az észak-amerikai epidémia.....	10
3.1.2. A kórokozó Európában.....	12
3.1.2.1. Az európai szelídgesztenye .....	12
3.1.2.2. A <i>Cryphonectria parasitica</i> Európában .....	15
3.1.2.3. A <i>Cryphonectria parasitica</i> hazánkban.....	16
3.1.2.4. A <i>C. parasitica</i> egyéb gazdanövényei a kontinensen.....	17
3.1.2.5. A kórokozó a Soproni-hegységben.....	20
<b>3.2. A betegség tünetei</b> .....	<b>20</b>
<b>3.3. Az infekció, a kórokozó terjedése</b> .....	<b>24</b>
<b>3.4. A gazda-patogén kölcsönhatás fiziológiája</b> .....	<b>26</b>
3.4.1. Biotechnológia - a szelídgesztenye mikroszaporítása .....	27
<b>3.5. A <i>C. parasitica</i> elleni védekezés lehetőségei</b> .....	<b>28</b>
3.5.1. Ellenálló fajták termesztése .....	28
3.5.2. Kémiai védekezés .....	29
3.5.3. Mechanikai védekezés .....	29
3.5.4. Biológiai védekezés .....	30
3.5.4.1. Biológiai védekezés antagonisták mikroorganizmusok felhasználásával .....	30
3.5.4.2. Biológiai védekezés a kórokozó hipovirulens törzseinek felhasználásával ...	30
<b>3.6. Növény-egészségügyi előírások</b> .....	<b>34</b>

<b>4. ANYAG ÉS MÓDSZER.....</b>	<b>35</b>
<b>4.1. A Soproni-hegység természeti viszonyai.....</b>	<b>35</b>
4.1.1. Földrajzi fekvés .....	35
4.1.2. Geológiai viszonyok.....	35
4.1.3. Domborzati viszonyok.....	36
4.1.4. Éghajlat.....	36
4.1.5. Talajviszonyok .....	36
4.1.6. Növényföldrajz .....	37
<b>4.2. Terepi vizsgálatok.....</b>	<b>37</b>
4.2.1. A kórokozó elterjedésének felmérése.....	37
4.2.2. A terepi kísérleti terület - Ágfalva .....	38
4.2.2.1. Hipovirulens kezelések.....	39
<b>4.3. Laboratóriumi vizsgálatok.....</b>	<b>40</b>
4.3.1. Klasszikus vizsgálatok.....	40
4.3.1.1. Tiszta törzstenyészetek létrehozása .....	41
4.3.1.2. Virulencia-tesztek.....	41
4.3.1.3. Kompatibilitási vizsgálatok .....	43
4.3.1.4. Konvertálás.....	45
4.3.2. Molekuláris biológiai vizsgálatok .....	46
4.3.2.1. A kettőszálú RNS kimutatása .....	47
4.3.2.2. A gombatörzsek genetikai azonosságának igazolása RAPD analízissel .....	48
4.3.3. Kóréletteni vizsgálatok.....	49
4.3.3.1. Mikroszaporítás .....	49
4.3.3.1.1. Sterilizálás .....	49
4.3.3.1.2. Iniciális fázis.....	50
4.3.3.1.3. Multiplikációs eljárás .....	50
4.3.3.2. <i>In vitro</i> virulencia tesztek .....	52
4.3.3.3. Szelídgesztenye-növények fejlődése <i>C. parasitica</i> -kivonatot tartalmazó táptalajon .....	52
4.3.3.3.1. <i>C. parasitica</i> kultúra-szűrlet.....	52
4.3.3.3.2. A szelídgesztenye-hajtástenyészetek táptalaja .....	53

<b>5. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK.....</b>	<b>54</b>
5.1. A <i>C. parasitica</i> előfordulása Soproni-hegyvidéken .....	54
5.2. Virulencia-tesztek .....	58
5.3. Kompatibilitási vizsgálatok, konverziók .....	62
5.4. A terepi biológiai védekezés eredményei.....	75
5.5. Kóréletti vizsgálatok .....	83
5.5.1. <i>In vitro</i> virulencia tesztek .....	85
5.5.2. A <i>C. parasitica</i> kultúra-szűrlet hatása gesztenye hajtásokra.....	89
<b>6. ÖSSZEFOGLALÁS .....</b>	<b>91</b>
<b>7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....</b>	<b>95</b>
<b>8. FELHASZNÁLT IRODALOM.....</b>	<b>96</b>
<b>9. MELLÉKLETEK.....</b>	<b>102</b>

## 1. Kivonatok

*Az 1990-es évek elejétől a Soproni-hegységben is intenzív terjedésnek indult a szelídgesztenye legjelentősebb kórokozója, a Cryphonectria parasitica (Murr.) Barr gombafaj okozta epidémia. Első lépésként felmértem a betegség elterjedését, ezzel párhuzamosan a kórokozó populáció-struktúrájának vizsgálatához mintákat gyűjtöttem a hegyvidéken és a kertvárosban. Az izolátumokból hat vegetatív kompatibilitási típust határoztam meg, melyek közül háromnak jelentős az áréája, míg a többi gyakorlatilag csak néhány izolátummal szerepel. Három sikeres konverziót végeztem magyarországi hipovirulens törzsekkel, az átalakított gombatörzsek genetikai azonosságát RAPD analízissel igazoltam. Az így nyert hipovirulens törzsek gyógyításban való alkalmazhatóságát szabadföldi kísérletek során értékeltem. Az ágfalvi kísérleti területen és a környező gesztenyésekben konvertált hipovirulens törzsekkel 1996-tól rendszeresen kuratív jellegű kezeléseket végeztem, elérve a fák gyógyulását.*

*Az alkalmazott biológiai védekezés során fontos szempont volt az izolált törzsek virulenciájának meghatározása, az esetleges hipovirulencia minél egyszerűbb megállapítása. A szelídgesztenye és a kórokozó kölcsönhatásának in vitro vizsgálata egy a gyakorlatban gyorsan és megbízhatóan alkalmazható tesztet eredményezett.*

*A jövőben újabb vegetatív kompatibilitási típusok megjelenésére kell számítani, ezért a biológiai védekezés hatékony alkalmazása folyamatos populáció-struktúra vizsgálatokat igényel a Soproni-hegységben.*

### *Chestnut blight [Cryphonectria parasitica (Murr.) Barr] fungus in Sopron Hills*

*The distribution and incidence of chestnut blight caused Cryphonectria parasitica were surveyed in Sopron Hills. The infection rate is different, up to 35 %. Based on the merging-barrage response six vegetative compatibility types were detected. SI and SII are the most frequent and present all of the hills. Natural hypovirulence has not been occurred yet. Converted hypovirulent strains were estimated for practical control of disease. In the experimental area found that more than 90 % of the treated trees were healed after eight years. Rapid in vitro test for hypovirulence in the fungus were investigated, based on the interaction between the micro-propagated chestnut and the pathogen.*

## 2. Bevezetés

Az elmúlt évszázadban több olyan járvány alakult ki erdei ökoszisztémákban, amelyek során a kórokozó nagymértékű patogenitása, és a betegség területi kiterjedése miatt fafajok fennmaradása került veszélybe. Ezek közé tartozott például a szilpusztulás, a simafenyő hólyagrozsdája, vagy a szelídgesztenye-kéreggrák. Legtöbb esetben a kórokozó behurcolása vagy a gazdanövény átvitele vezetett pandémiák kialakulásához. A már dinamikus erősödő járványok megfékezése az erdőterületeken rendkívüli erőfeszítéseket kíván, és az erdővédelem hagyományos módszereivel általában nem lehetséges. A tudomány fejlődésével új lehetőségek nyíltak a növénypatológiában is: a kórfolyamatok és a növényi rezisztencia élettani és biokémiai mechanizmusainak megértése hozzájárulhat a korszerű, környezetkímélő biológiai növényvédelemhez. A molekuláris biológia gyakorlati alkalmazásai a betegség etiológiájának tisztázásához, a kórokozó populáció-dinamikai vizsgálataihoz nyújtanak segítséget. A fent említett epidémiák egyike, a szelídgesztenye-kéreggrák az 1990-es évekre a Soproni-hegyvidéken is komoly problémákat okozott.

Sopronnak és a Soproni-hegyvidéknek jellegzetes fája a szelídgesztenye. A Lővérekből indulva a telepített gesztenyéseken át egészen a hegység legtávolabbi erdőréséig mindenütt találkozhatunk vele. Ez az értékes elegyfaj nemcsak a faanyagával, de ízletes termésével, kiválóan mézélő virágaival gazdagítja a hegység flóráját. Néhány évtizeddel ezelőtt azonban a Soproni-hegyvidéket is elérte a szelídgesztenye járványos pusztulását előidéző kórokozó, amellyel mind a környező gesztenye-ültetvények, mind a természetszerű erdőtársulások szelídgesztenyéi megfertőződtek és pusztulásnak indultak. A betegség okozója egy Ázsiából származó, onnan amerikai közvetítéssel Európába behurcolt mikroszkópikus gombafaj, a *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr.

A betegség leküzdése és az epidémia megállítása a hagyományosan alkalmazott növényvédelmi eljárásokkal nem volt lehetséges. Az áttörést egy környezetkímélő biológiai védekezés jelentette, amely a patogén csökkent virulenciájú törzseinek elterjesztésén alapszik.

Ennek a kutatásnak a célkitűzése volt karakterizálni a kórokozó helyi populációját, illetve a betegség és az epidémia leküzdésére máig ismert egyetlen hatásos, biológiai módszert adaptálni a Soproni-hegyvidékre. Ennek eléréséhez az alábbi célokat kellett megvalósítani:



- felmérni a betegség elterjedését a Soproni-hegyvidéken,
- kéregmintákat gyűjteni a fertőzött területekről, a mintákból izolálni és a további laboratóriumi vizsgálatokhoz törzsgyűjteményben fenntartani a kórokozót,
- az izolátumokból meghatározni a kórokozó különböző vegetatív kompatibilitási típusait és megállapítani azok elterjedését a Soproni-hegyvidéken,
- az EU-teszter törzsekkel való kompatibilitási viszonyokat meghatározni, ebből következtetni az epidémia kialakulására,
- továbbá lehetőség szerint helyi hipovirulens törzseket felkutatni,
- ehhez virulencia-teszteket végezni a vélhetően hipovirulens izolátumokkal,
- helyi hipovirulens törzsek hiányában konvertálni a kórokozó virulens törzseit magyarországi hipovirulens törzsek felhasználásával,
- molekuláris biológiai módszerekkel igazolni az ily módon konvertált törzsekben a hipovirulenciát, és a konvertált törzsek genetikai azonosságát,
- a konvertált hipovirulens törzsek tenyésztésével több éven keresztül kuratív célú kezeléseket végezni, azokat értékelni, javaslatokat tenni hatékonyságuk fokozása céljából,
- kísérleteket végezni a szelídgesztenye mikroszaporítására vonatkozóan,
- *in vitro* vizsgálni a kórokozó és a gazdanövény kölcsönhatását,
- kidolgozni egy gyors és megbízható *in vitro* virulencia-tesztet a hipovirulens törzsek elkülönítése céljából.

### 3. A téma szakirodalmának áttekintése

Ebben a fejezetben ismertetem a kórokozó jelentőségét, kitérve az általa több kontinensen és hazánkban okozott pandémiára. Jellemzem a betegség szimptomáit, a patogenezist kezdve a fertőzési forrástól a kórokozó elterjedéséig. Végül feltárom az ellene való védekezés lehetőségeit.

#### 3.1. A *Cryphonectria parasitica* és jelentősége

A kéregelhalást okozó *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr (syn.: *Endothia parasitica* (Murr.) And. - anamorfa: *Endothiella parasitica*) tömlősgomba a szelídgesztenye kiemelkedő jelentőségű kórokozója nemcsak Európában, de a *Castanea* nemzetség egész elterjedési területén. A gombafajt Murrill 1906-ban mint *Diaporthe parasitica* írta le, mely elnevezést rövidesen *Endothia parasitica*-ra módosították. A betegséget szelídgesztenye-rák, szelídgesztenye kéregbetegség, endotiás kéregelhalás kifejezésekkel írta le. 1978-ban Barr a kórokozót a *Cryphonectria* nemzetségbe sorolta, így alakult ki a jelenleg is használatos tudományos név (Radócz 2002). A faj rendszertani besorolása a következő: *Fungi* – valódi gombák, *Ascomycota* – Tömlősgombák törzse, *Diaporthales* rend, *Valsaceae* család (Hawksworth és munkatársai 1995). Nyelvterületünkön a betegség leginkább használatos elnevezése szelídgesztenye-kéregrák.

##### 3.1.1. Az észak-amerikai epidémia

A *C. parasitica* gomba egy kelet-ázsiai endemikus gombafaj, a helyi *Castanea* fajok, így a kínai szelídgesztenye (*Castanea mollissima* Bl.), a japán szelídgesztenye (*Castanea crenata* Sieb. & Zucc.), ellenállóak vele szemben.

A kórokozó gombafaj a század elején az amerikai szelídgesztenye [*Castanea dentata* (Marsh.) Borkh.] szinte teljes kiirtásával hívta fel magára a figyelmet. Az 1800-as évek végén amerikai nemesítők kínai és japán szelídgesztenye-oltványok behozatalával kezdtek foglalkozni, hogy keresztezve azokat az amerikai szelídgesztenyével, fokozzák a termés mennyiségét. Az oltványokkal együtt azonban a

*Cryphonectria parasitica* gombát is behurcolták az Egyesült Államokba. Merkel figyelte meg elsőként az általa „halálos gombának” nevezett kórokozót elpusztult amerikai szelídgesztenyefákon 1904-ben, New Yorkban a bronxi állatkertben. (Moore-Ballington 1991). Az amerikai szelídgesztenye példa nélküli fogékonyságot mutatott a gombával szemben. A zárszolgálati rendelkezések és védekezések ellenére a gomba negyven év alatt megfertőzte, és csaknem teljesen elpusztította a gesztenye-populációt, amely a keleti partvidék lombos erdeiben az élőfakészlet 25 %-át adta, és kb. 3,5 billió fa pusztulását jelentette. A fafaj fennmaradását gyakorlatilag az elpusztult egyedek tősarjai biztosították (Roane és munkatársai 1986).



1. ábra Amerikai szelídgesztenye (*Castanea dentata*) törzsek  
Észak-Karolinában - a járvány fellépése előtt  
(Roane és munkatársai 1986.)

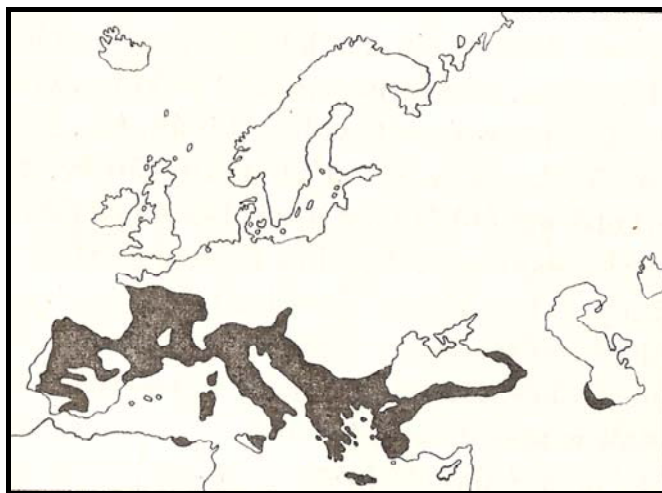
A járvány napjainkban is tart. Mivel a gomba szaprofitonként él és sporulál a rezisztens ázsiai gesztenye-fajokon, a tölgyeken és egyéb fafajokon is, így a genetikailag fogékony amerikai gesztenye állandó potenciális fertőzésnek van kitéve.

### 3.1.2. A kórokozó Európában

Az Észak-Amerikában okozott járványt követően a kórokozó Európába is eljutott, ahol az európai szelídgesztenyében szintén fogékony gazdanövényre lelt. A kontinensünkön okozott epidémia azonban nem volt ennyire súlyos, ami a *Castanea sativa* (Mill.) és a rezisztens ázsiai gesztenye-fajok közötti szorosabb rokonsági viszonynak tudható be.

#### 3.1.2.1. Az európai szelídgesztenye

Az európai szelídgesztenye (*Castanea sativa* Mill.) szubmediterrán flóraelem, áréája a 2. ábrán látható. Eredeti hazája valószínűleg Kis-Ázsia volt. Évszázadok óta termesztik, ezért az eredeti elterjedési területén kívül sokfelé meghonosodott. Európa kontinentális és atlantikus klímájú területein a rómaiak honosították meg.



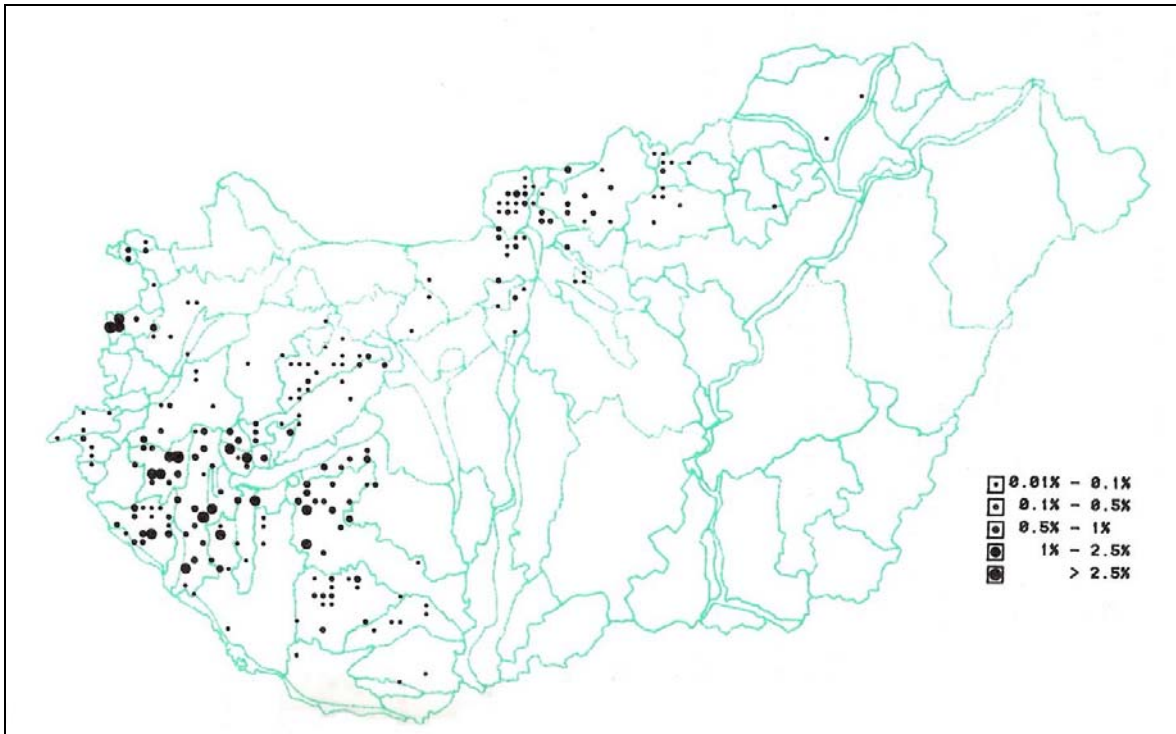
2 ábra A szelídgesztenye elterjedése Európában  
(Csapody és munkatársai, 1966)

Elterjedéséből következik, hogy melegigényes, mezofil faj, a fagygal szemben mérsékelten rezisztens. Ezeknek a behatárolt klímaigényeknek tulajdonítható, hogy a gesztenye a mediterráneumban a hegységek lábánál a *Castanetum* néven ismert keskeny klímaövet alkotja. Elterjedésének északi határán enyhe, a kontinentális szélsőségektől mentes klímát igényel, inkább a meleg, napos fekvésekben fordul elő. A levegő közepes páratartalmát itt is megkívánja. A mély termőrétegű, levegős talajok jelentik számára az

optimumot. Mészkerülő, kálium-igényes faj, savanyú vagy semleges talajokon él meg. Terjedelmes és mély gyökérzete révén az ásványi tápanyagokat a mélyebb talajrétegekből veszi fel, ezért a felső talajrétegek kilúgozására nem érzékeny. Gazdag lombhullásával, könnyen lebomló lombjával a talajt javítja. Fényigényes faj, mérsékelten árnyéktűrő. A bőséges termésképzéshez teljes fényt igényel (Gencsi, Vancsura 1992).

Behatárolt talaj- és klímaigénye miatt magyarországi térfoglalása nem jelentős, ennek ellenére értékes fafaj. Gyors növekedésű, a gesztenyések vagy gesztenyés-tölgyesek élőfakészlete nagy. Sárgásbarna fája értékes iparifa, sok gesztesítőanyagot tartalmaz. Gyors növekedése miatt kiválóan alkalmas felújítógások lékeinek pótlására. Sarjadzási képessége kiváló, állományait tuskósarjról egymás után több generációban is fel lehet újítani. (Bondor 1984).

Hazánkban a kiegyenlített klímájú, általában savanyú alapkőzetű hegy- és dombvidékek fafaja. Legészakibb elterjedését a Kárpát-medencében Nagybányánál éri el. Leggyakoribb Zalában (Zalai-hegyhát, Déli-Pannonhát, Göcsej), a Kőszegi- és a Soproni-hegységben, a Mecsekben és a Dunakanyarban. A Balaton-felvidéken (Rezi) szórványos. A nyugat-dunántúli előfordulásokat őshonosnak tartják, amit fosszilis adatok is alátámasztanak. A Bakonyban (Gézaháza, Farkasgyepű) és az Északi-középhegységben (Diósjenő, Somoskő, Diósgyőr, Tokaj, Szinpetri) valószínűleg ültetett. A szelídgesztenye magyarországi elterjedését a 3. ábra szemlélteti.



3. ábra A szelídgesztenye elterjedése Magyarországon (Bartha, Mátyás 1995)

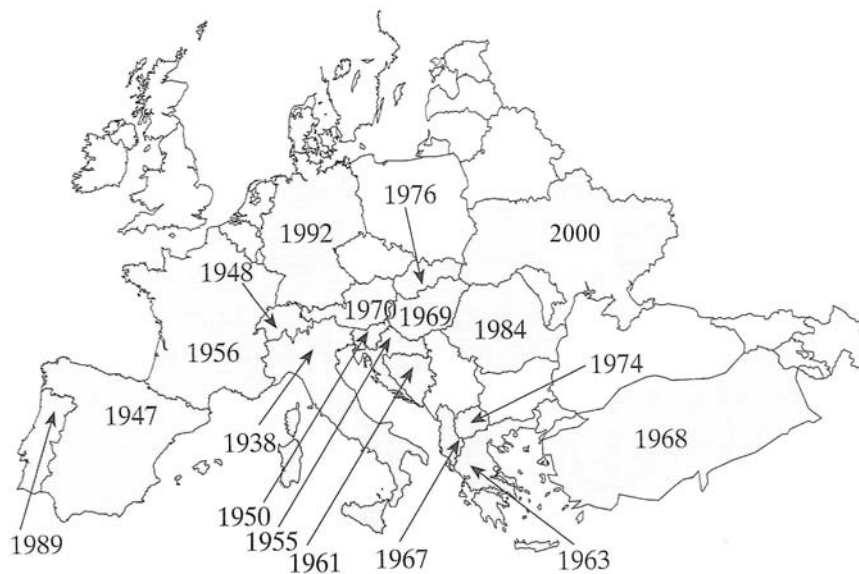
A Nyugat-Dunántúlon jellemző és egyben névadó faja a dunántúli vagy gesztenyés mészkerülő tölgyeseknek (*Castaneo-Quercus-Carpinetum*), de mint mészkerülő erdők fája megtalálható mészkerülő gyertyános-tölgyes (*Luzulo-Quercus-Carpinetum*), mészkerülő bükkös (*Luzulo-Fagetum*), mészkerülő erdeifenyves (*Genisto nervatae-Pinetum*), és fenyő-elegyes-tölgyes (*Pino-Quercetum*) asszociációkban. Ugyanitt a gyertyános-kocsánytalan tölgyesekben (*Quercus petraeae-Carpinetum*), a Dél-Dunántúlon az illír gyertyános-tölgyesekben (*Helleboro dumetorum-Carpinetum*), és a mecseki gyertyános-tölgyesekben (*Asperulo taurinae-Carpinetum*) elegyfa, az illír bükkösökben (*Vicio oroboidi-Fagetum*) ritkább. Középhegységi előfordulásai cseres-kocsánytalan-tölgyesekben vannak (*Quercetum petraeae-Cerris*), a mecsekiek a mecseki cseres-tölgyesből (*Tilio tomentosae-Quercetum petraeae-Cerris*) származtathatók.

Elegyetlen, parkerdő jellegű állományai (*Castanetum sativae*) a kultúra termékei, általában az elegyet képező kocsánytalan tölgy kivágásával keletkezett, elfüvesedett gyepszinttel rendelkező ligetes társulások (Csapody és munkatársai 1966).

### 3.1.2.2. A *Cryphonectria parasitica* Európában

Európába a feltételezések szerint amerikai közvetítéssel került a betegség. Először Belgiumban és Nagy-Britanniában fedezték fel a kórokozót 1925-ben, amely valószínűleg az első világháború alatti behurcolás következménye. A gyors felfedezés és a fertőzött fák kiirtása megakadályozta a gomba terjedését. 1936-ban Franciaországban, a Nantes-i botanikus kertben ázsiai gesztenye fajokon szintén megtalálták a gombát. A fertőzött gócot itt is felszámolták, és vélhetően megakadályozták a járvány kialakulását. (Körtvély 1970).

Az európai szelídgesztenyét (*Castanea sativa* Mill.) megtizedelő epidémia Észak-Olaszországból indult, ahol 1938-ban azonosították a kórokozót. Ettől kezdődően a gomba megkezdte járványszerű pusztítását a kontinensen. A járvány terjedése azonban mérsékeltebb volt, mint az Egyesült Államokban, ez részben az európai szelídgesztenye fokozottabb ellenálló-képességének, részben az állományok nagyobb térbeli elszigeteltségének tudható be. Mindezek ellenére újabb és újabb fertőzési gócok jelentek meg: 1947-ben Spanyolországban, 1948-ban Svájcban, 1950-ben Jugoszláviában, 1956-ban ismét Franciaországban, így Európa jelentősebb szelídgesztenye-állományai megfertőződtek (Robin, Heiniger 2001). A betegséget azóta megtalálták számos más országban, ahol a gesztenye számottevő mértékben vagy akár csak szórványosan előfordul, így Törökországban, Görögországban, Portugáliában, Németországban, Ausztriában, Magyarországon, Szlovákiában, Albániában, Oroszországban, Azerbajdzsánban, Romániában, Ukrajnában, Németországban. (4. ábra).



4. ábra A kórokozó első megfigyelése az európai országokban  
(Robin, Heiniger 2001)

### 3.1.2.3. A *Cryphonectria parasitica* hazánkban

A hazai szakirodalomban Roth (1908) tudósított elsőként, az Erdészeti Kutatásokban a kórokozóról, kiemelve annak veszélyességét: az amerikai járványra hívja fel a figyelmet, és felszólít a szelídgesztenye csemete és termés behozatalának tilalmára. Ezt követően 1955-ben, az Európában okozott epidémia első éveiben jelent meg cikk Berend tollából, amelyben kiemelte a gomba jelentőségét (Berend 1953).

Hazánkban a gomba első előfordulását (1969, Nemesmetés, Zala m.) Körtvély írta le 1970-ben, a gesztenye endotiás kéregelhalásaként nevezve meg a betegséget. Hazai elterjedésének pontos felmérését 1970-ben kezdték meg a MÉM Gesztenyevédelmi Laboratóriumának munkatársai. 1972-ig a gombát a nemesmetési előforduláson kívül csak a csöngedi (Zala megye) anyatelepen észlelték.

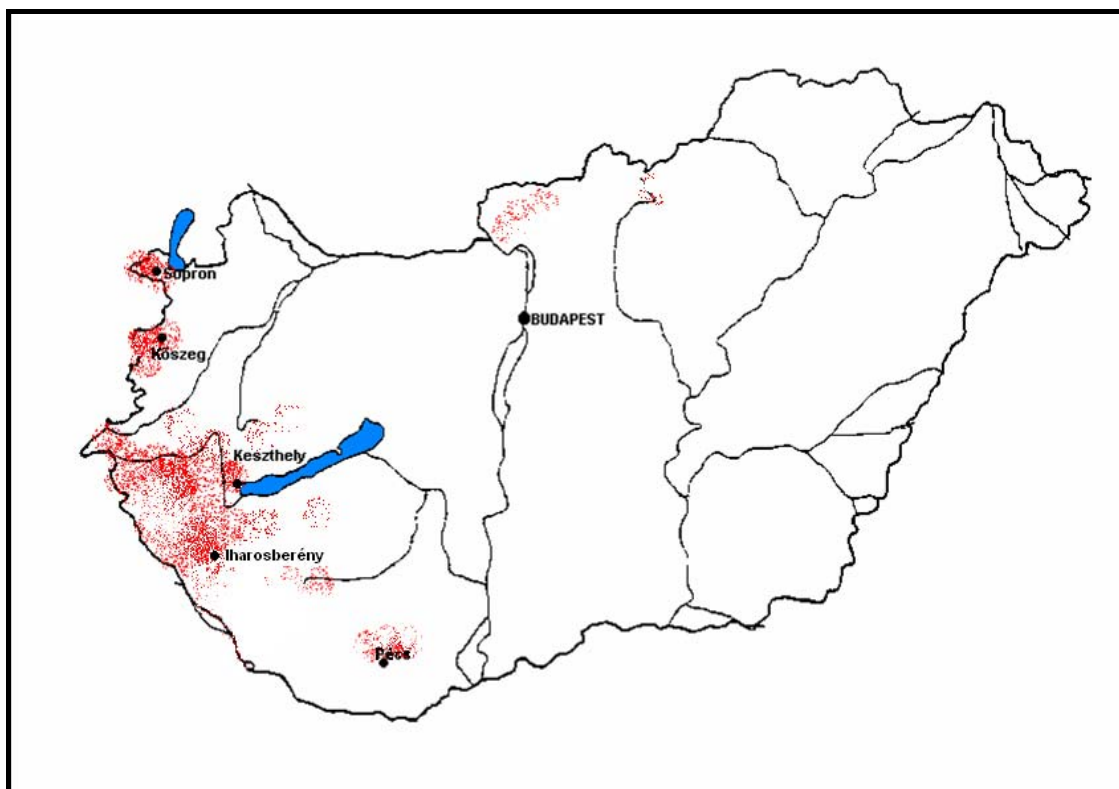
1973-ban - alaposabb felderítés után – a kórokozó jelenléte bizonyossá vált több területen is, így Kőszegen, Pécsen, Pécsváradon, Nemesapátiban. 1974-es vizsgálatok során kimutatták a fertőzést az iharosberényi, a rezi és az ágfalvi gesztenyésekben. Ezen vizsgálatok alapján a termőtájakat tekintve csak a Duna-kanyar volt mentes a kórokozótól. A felmérés során Iharosberényben több éve kitermelt gesztenye-törzseken is aktívan sporuláló telepeket találtak, így feltételezhető, hogy nem csak a nemesmetési góc volt az



egyetlen, ahol az 1960-as végén jelen volt a kórokozó. Iharosberényben, egy ligetes, szépen gondozott állományban a kórokozó terjedése is lassabb volt, mint a nemeshetési, erdő jellegű gesztenyésben (Eke, Gál 1975).

A betegség leküzdésére, a járvány megállítására tett erőfeszítések hazánkban sem jártak sikerrel. A következő években a *C. parasitica* az ország valamennyi jelentős szelídgesztenye-termőtáján megjelent, és napjainkban is intenzíven terjed mind az ültetvényekben, mind a természetszerű erdőtársulásokban. Magyarországi elterjedési területe az 5. ábrán látható.

1976-ban áttért a kórokozó a szomszédos Szlovákiába, 1984-ben Romániában is megtalálták, így a kórokozó néhány évtized alatt elérte a szelídgesztenye áréájának határait (Radócz 2001).



5. ábra A *C. parasitica* elterjedése Magyarországon

#### 3.1.2.4. A *C. parasitica* egyéb gazdanövényei a kontinensen

A *C. parasitica* egyes virulens törzsei a szelídgesztenyén kívül képesek más fákat is megbetegíteni, leginkább tölgyeket, ritkán egyéb fafajokat is. A kórokozó fő gazdanövényei: *Castanea spp.*, *Quercus spp.*, *Acer spp.*, *Rhus typhina* (Sótonyi, Aponyiné 1996).

A szomszédos Szlovákiában a kórokozót már 1978-ban megtalálták kocsányos tölgyön. Később kocsánytalan tölgyön is észleltek fertőzést. Juhászová és Kulcsarová (2002) vizsgálatai során hipovirulens gombatörzseket is izolált tölgyekről.

Svájci kutatók, Bissegger és Heiniger 1991-ben publikálták a parazita előfordulását fiatal kocsánytalan tölgyeken.

Luisi és munkatársai (1992) Dél-Olaszországban, molyhos tölgy és szelídesztenye alkotta állományokban folytattak vizsgálatokat, és a tölgyeken is nagymértékű fertőzöttséget állapítottak meg.



6. ábra Jellemző tünet kocsánytalan tölgyön  
(fotó: Vidóczi H.)

A gombát Dél-Európában megtalálták *Quercus pubescens*, *Qu. frainetto*, *Qu. ilex*, *Carpinus betulus*, *Ostrya carpinifolia*, *Alnus cordata* fajokon. Rajtuk nem okozott pusztulást a *C. parasitica*, ezek az előfordulások inkább az epidémiában játszanak szerepet (Dallavalle, Zambonelli 1999).

Hazánkban *Quercus petraea*-n fordul elő a gomba, különösen a gesztenyével elegyes fiatal kocsánytalan-tölgyesekben. A tölgyek mortalitása azonban lényegesen

alacsonyabb, mint a gesztenyéké, csak elvétve okozza a gomba a fák pusztulását. A keletkezett rákok egyrészt a faanyag károsodását okozzák, másrészt hozzájárulnak a virulens törzsek további terjedéséhez. (Szabó 2003). Fontos kiemelni, hogy hazánkban kocsánytalan tölgyön ez idáig a kórokozónak csak a virulens törzseit figyelték meg.

A betegség jelentőségére való tekintettel 2003-tól kezdődően az Állami Erdészeti Szolgálat koordinálásával országos felmérés kezdődött, amelynek célja a gomba tölgyön való kártételének felmérése, a patogén törzsek identifikálása.



7. ábra Kéreggrák által elpusztított kocsánytalan tölgy  
(fotó. Vidóczi H.)

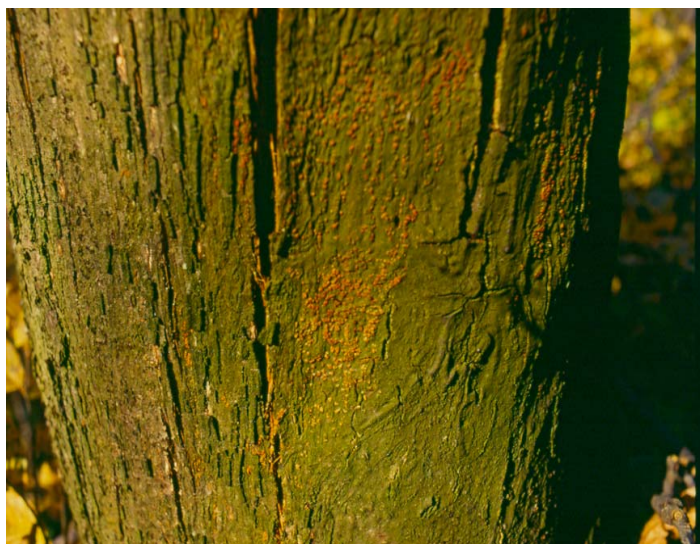
### **3.1.2.5. A kórokozó a Soproni-hegységben**

A gombát az 1974-es vizsgálatok során fedezték fel a Sopron melletti ágfalvi gesztenyésben (Eke, Gál 1975). Az általa okozott járvány viszont csak az 1990-es évek elején kezdett kiteljesedni, bár a kórokozó ekkor már több mint egy évtizede jelen volt a termőtájban. Radócz és munkatársai (1997) vizsgálatai szerint 1993-ban az ágfalvi gesztenyés fertőzöttsége a 39 %-os értékkel országos viszonylatban is jónak számított. Hipovirulens törzset nem találtak a Soproni-hegységben.

1993-96 között végzett vizsgálatok alapján a kórokozó mindhárom (Ágfalva, Fáber-rét, Fertőszentmiklós) nagyobb gesztenyésben jelen van, ebben az időszakban a fertőzés mértéke 19-83 %-os. Legkevésbé fertőzött az Ágfalva határában fekvő, erdő jellegű, különböző korú állomány, míg legjobban fertőzött a fertőszentmiklói, ültetvény jellegű, fiatal gesztenyés. Az izolált gombatörzsek mind virulensek (Varga, Szabó 1995).

### **3.2. A betegség tünetei**

A gomba által kiváltott tünetek igen jellegzetesek: a háncs és a kambium szöveteinek elpusztításával a rákos részek fölött a fa nedvkeringése leáll, az ágak vagy akár az egész törzs hirtelen száradását okozva. A beteg, felrepedező kéregrészen narancsszínű sztromatikus piknidiumok törnek elő (8. ábra), néhány év múlva pedig megjelennek az ivaros termőtestek, a peritéciumos sztrómák. A megtámadott rész alatt a fa vízajtásokat képez, de ezek már gyakran a következő évben elpusztulnak. Gyakran tősarjképződéssel reagál a fa a gomba támadására (Vidóczi és munkatársai 2000).



8. ábra Felrepedező kéreg, rajta tömegesen képződő sztomatikus piknídiumok (fotó: Vidóczi H.)

A megtámadott résztől függően a tünetek is változatosak. A vékonyabb kérgű részeken az infekció első jeleként a kéreg vöröses színűre változik, besüpped, majd narancssárga, sztomatikus piknídiumok tömege jelenik meg rajta (9. ábra). Később felrepedezik, és az elhalt kéregszövet leválik. A kéreg alatt jól látható a legyező alakban terjedő krémszínű micélium (*szirrócium*) (Eke, Gál 1975).



9 ábra A *C. parasitica* tipikus tünete sarjakon (fotó: Vidóczi H.)



Idősebb fa fertőződése esetén gyakran előfordul, hogy a gomba micéliuma a törzs vastag kérge alatt rejtve növekszik, és sztomatikus piknídiumokat egyáltalán nem, vagy csak alapos szemlélés után a kéregrepedések mélyén figyelhetünk meg. A fertőzés előrehaladtával a kéreg itt is felrepedezik, leválik és létrejön a nyílt rák (Sótonyi, Aponyiné 1996).

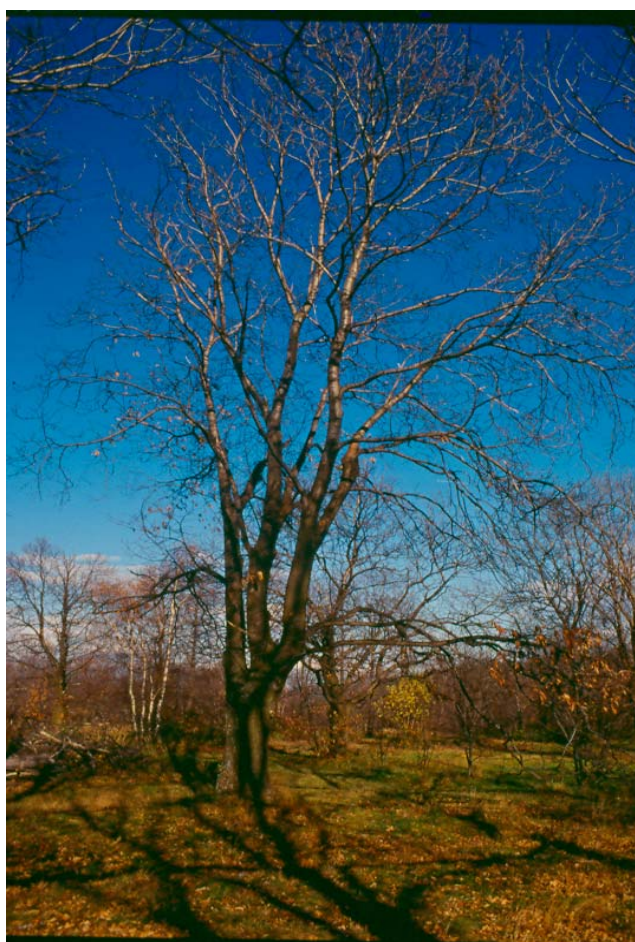


*10. ábra* Nyílt rák egy pusztuló fa tövén, jellegzetes a tősarjképződés (fotó: Vidóczi H.)

Jellemző tünet a lombzat vegetációs időben történő hirtelen elszáradása. Mivel elválasztó szövet nem tud kialakulni, így a száraz levelek, termések a vegetációs időn kívül is, évekig a fán maradnak. Ezek az ún. zászlók messziről felhívják a figyelmet a kórokozó jelenlétére (Juhásová, Radócz 1994) (*11. és 12. ábra*).



*11. ábra* Részleges koronapusztulás (fotó: Vidóczi H.)



*12. ábra* „Zászlós” gesztenyefa a Fáber-réten  
(fotó: Vidóczi H.)



Azok a beteg fák, amelyekről nem távolították el ezeket a fertőzött koronarészeket, egyrészt állandó fertőzésnek teszik ki a szomszédos egyedeket, másrészt a törzsön lefolyó csapadékkal maguk is egyre több helyen fertőződnek a kórokozó spóráival. Gyakorivá válnak az ágvilla nekrosisok, majd a törzs fertőzései, amelyek végül is a fa pusztulásához vezetnek (Radócz 2002). Előrehaladott fertőzést mutat a *13. ábra*.



*13. ábra* Súlyosan fertőzött fa (fotó: Vidóczy H.)

### **3.3. Az infekció, a kórokozó terjedése**

A gomba sebszaporító, leginkább kéreggyűrődéseket, kéregrepedéseket, sebzéseket használ behatolási helyként, és a fertőzést követő néhány éven belül elpusztítja a fát. Az infekció a következőképpen zajlik: a bekerülő konídium vagy aszkospóra kicsírázik. A lappangási idő 3-6 hét. A gomba a kéreg és a kambium szöveteinek elpusztítása után eljut a fatestbe, és a külső három évgyűrűben lokalizálódik. A narancsvörös, sztromatikus piknidiumok legkevesebb 15 nap alatt alakulnak ki, bennük apró  $3,5 \times 1,2 \mu\text{m}$  méretű, pálcika alakú, hialin spórák keletkeznek. A konídiumok kiürülése és szóródása már  $3 \text{ }^\circ\text{C}$



felett folyamatos. A gomba micéliuma a fa elpusztítása után szaprotrófként még évekig képes fennmaradni, miközben rengeteg spórát termel (Radócz 2002).



14. ábra Konídiumtömeg-kibocsátás piknídiumból (fotó: Vidóczi H.)

A peritéciumok leginkább tavasszal képződnek, néhány évvel a kéreg elhalása után. A bennük keletkező aszkospórák szóródása csak csapadékos idő esetén következik be, amikor az átlaghőmérséklet legalább 10 °C. Csoportosan, narancsvörös sztrómába mélyedten fejlődnek, hosszú osztiolummal érik el a felszínre. A hialin aszkospórák, kétsejtűek, méretük 7-11 x 3,5-5 µm. (Radócz 2002).

A járvány terjesztésében a konídiumoknak van nagyobb szerepük, mivel ezek tömegesen képződnek az élő és az elpusztult fán egyaránt, már fagypont felett folyamatosan, akár télen is (14. ábra). Szóródásukhoz elegendő a reggeli vagy az esti harmat által biztosított nedvesség. Guérin és Robin (2003) megfigyelései szerint azok a konídiummal végzett mesterséges inokulációk eredményezték a legnagyobb léziókat, amelyeket május és július hónapok között végeztek. A télen és ősszel végzett inokulációk nem okoztak szabad szemmel látható elváltozásokat.

A kórokozó a leveleket, virágokat, terméseket nem fertőzi, de mivel a konídiumok ragadós anyagba ágyazottak, könnyen megtapadnak például a termések felületén. A spórákkal szennyezett termés szerepet játszhat a kórokozó kontinentális terjedésében. A madarak kültakaróján, csőrén megtapadó spórák ugyancsak a nagyobb távolságokra való

terjedést segítik elő. Itt kell megemlíteni a fertőzött faanyag, szaporítóanyag szállítását mint a kontinentális terjedés fontos tényezőjét. A spórák lokális terjedésében nagy szerepe van a szélnek, esővíznek, rovaroknak, antropogén tényezőknek. Gondozott gesztenyésekben gyakran előfordul, hogy a beteg ágak eltávolítása során magával a munkaeszközzel viszik át a betegséget, vagy ha a tisztogatás után elmarad a sebfelület kezelése, azzal számos fertőzési kaput nyitnak a gombának (Turchetti és munkatársai 1996).

### 3.4. A gazda-patogén kölcsönhatás fiziológiája

A *C. parasitica* és a szelídgesztenye patogenezisében a két legfontosabb jellemzője a legyező alakban gyorsan terjedő micélium és a magas aciditás a marginális szektorban. A szirrócium gyors növekedése nagy tápanyagbázist igényel. Ezt a különböző szelídgesztenye-fajokban található tannin biztosítja. Bebizonyították, hogy a gomba képes több gesztenye-faj kivonatán növekedni, s eközben a táptalaj aciditása növekszik. Kimutatták, hogy a kéregrák-rezisztens ázsiai gesztenye-fajokban csak hidrolizálható tannin található, míg a fogékony európai és amerikai fajok ezen kívül kondenzált tannint is tartalmaznak. (Roane és munkatársai 1986).

Piagnani és munkatársai (1997) kísérleteikben 50 % virulens és hipovirulens gomba kivonatot adtak a táptalajhoz, amelyen három héten keresztül *Castanea sativa* kallusztényészeteket tartottak fenn. A hipovirulens gombakivonat redukciót eredményezett a nyers tömegben és növekedést a száraz tömegben. A virulens kivonat nem okozott szignifikáns változást. Mikroszkopikus képeken jól látható a tonoplaszt sérülése, és a vakuólumokban keletkezett nagy, kerek ozmofil aggregátumok megjelenése a virulens gomba-kivonat esetén. Hipovirulens kivonatot adva a táptalajhoz, alig vakuolizált sejtekből állt a kallusz, amelyek merisztéma-szerű elrendezést mutattak.

Egy másik fiziológiai faktor a patogenezisben a *C. parasitica* által termelt fitotoxin, a diaporthin. Assante és munkatársai (2001) a kórokozó virulens és hipovirulens törzseinek kultúra-szűrlete és a szelídgesztenye-szövet interakcióját vizsgálták. A már ismert diaporthinon kívül még két fitotoxint mutattak ki, ezek az *L-p*-hidroxifeniláz, és egy eddig nem ismert, *cryphonectria* savnak nevezett metabolit. Ezek a fitotoxinok a hipovirulens gomba-kivonatokban sokkal kisebb mértékben voltak jelen.

Szintén olasz kutatók (Piagnani és munkatársai, 2002) vizsgálatokat végeztek virulens és hipovirulens *C. parasitica* kultúra-kivonatok toxicitására vonatkozóan. Megállapították, hogy míg a virulens kivonat nektrózt idézett elő, addig a hipovirulens nem indukált elváltozást a paradicsom-hajtásokon. Megállapították, hogy a virulens gomba-kivonat *Castanea sativa* és *Castanea mollissima* fajok esetén is szignifikáns tömegsökkenést eredményezett a kallusz-kultúrákban, emellett inhibitor hatása volt az O<sub>2</sub>-felvételre és a peroxidáz enzimaktivitásra.

Schafleitner és Wilhelm (2001) a patogenezis folyamán a génexpressziót vizsgálták virulens és hipovirulens *C. parasitica*-val fertőzött szelídgesztenye-növényekben. Arra az eredményre jutottak, hogy a hipovirulens kórokozót a növény érzékeli, és sokkal hatékonyabb védekezési mechanizmusokat indukál ellene.

### **3.4.1. Biotechnológia - a szelídgesztenye mikroszaporítása**

A *Cryphonectria parasitica* és a szelídgesztenye gazda-patogén kölcsönhatásának tanulmányozásához *in vitro* kísérleteket végeztem. Ehhez szükségem volt mikroszaporítással nyert szelídgesztenye-hajtástenyészetekre.

Több szaporítási eljárás is ismert a gyakorlatban.

Waindinger és Rodkachane (1993) adult szelídgesztenye mikroszaporításával foglalkozott. Kísérleteikben ½ NO<sub>3</sub>-MS (Murashige és Skoog, 1962), GD (Greshoff és Doy, 1972) és P24 táptalajt használtak, kiegészítve 3 % szacharózzal és 0,8 % agarral. A legjobb eredményeket P24 táptalajon érték el, a mikroszaporítás iniciális stádiumában thidiazuron és benzil-amino-purin (BAP) citokinineket használva, később a multiplikációs fázisban pedig 0,9 µM/l BAP-nal kiegészítve.

Ballester és munkatársai (1999) GD táptalajt használtak a szaporításhoz, kiegészítve ezt 0,7 % agarral , 3 % szacharózzal és 0,44 µM/l benzil-adeninnel. A kultúrákat 16 órás fotoperiódusban, 25 °C nappali, 20 °C éjszakai hőmérsékleten tartották.

Sanchez és munkatársai (1997) szintén GD táptalajt használtak, az előző kiegészítésekkel.

Miranda-Fontaina és Fernández-López (1998) összehasonlító kísérleteket végeztek, amelyben hat különböző összetételű táptalajt használtak: Heller (1953), ½ NO<sub>3</sub>-MS, GD, Lepoivre (Quorin és Lepoivre, 1977), Blayde (1966), Schenk és Hildebrandt (1972). Mindegyiket 30g/l szacharózzal egészítették ki, 6 % agarral szilárdították, és 0,2 mg/l BAP-t adtak hozzá. A legjobb multiplikációs rátát a GD táptalaj használata eredményezte.

Amerikai szelídgesztenye mikroszaporításával is folytak kutatások. Xing és munkatársai (1997) módosított, 1  $\mu\text{M/l}$  benzil-adeninnel kiegészített Woody Plant Medium (WPM, Lloyd, McCown, 1980) táptalajt használták a multiplikációhoz.

Serres és munkatársai (1990) szintén WPM táptalajt használtak, 0,85  $\mu\text{M}$  citokinin (benzil-adenin) kiegészítéssel.

### **3.5. A *C. parasitica* elleni védekezés lehetőségei**

A kórokozó rendkívüli veszélyessége és nagy kártétele miatt mind Európában számtalan kísérletet tettek a betegség gyógyítására, a járvány megállítására.

#### **3.5.1. Ellenálló fajták termesztése**

Régóta ismert a kínai szelídgesztenye (*Castanea mollissima* Bl.) kórokozóval szemben mutatott rezisztenciája. Mérsékelten toleráns a japán gesztenye (*Castanea crenata* Sieb. & Zucc.). Ezek az ázsiai fajok azonban a mi éghajlati viszonyainkat igen nehezen tűrik. A kéreg rák elleni rezisztencia és a fagy-tűrés mellett fontos nemesítési szempont még a jó törzsalak. Az USA-ban az Amerikai Mezőgazdasági Minisztérium (USDA) támogatásával 1922 óta folytatnak keresztezési programot. A kísérletek során sikerült néhány közepes rezisztenciájú hibridet előállítaniuk, közülük néhányat termesztésbe is vontak, ilyenek például a Crane és az Orrin. Az amerikai és kínai gesztenye fajhibridjeire jellemző, hogy mérsékelten toleránsak, a léziók növekedése lassabb, viszont az egyedek pusztulási rátája magas (Roane és munkatársai 1986).

Európában Bazzigher (1981) számolt be több évtizedes szelekciós kísérletekről. Az 1950-es évektől több mint százezer egyed, köztük japán gesztenyével alkotott hibrideket teszteltek a *C. parasitica*-val szembeni toleranciára. A mesterséges fertőzést követően a kialakult lézió méretei alapján szelektálták az egyedeket. A közepes-magas rezisztenciát mutató egyedekből génbankot hoztak létre, de a problémát ezzel nem oldották meg: a továbbiakban növekedési, fenológiai és fitopatológiai tulajdonságokra vonatkozó szelekciók szükségesek (Bazzigher, Miller 1987). A kísérletek azonban nem folytatódtak, ugyanis rezisztens típust, vagy hibridet nem sikerült felmutatniuk.

### 3.5.2. Kémiai védekezés

A több évtizedig folytatott kémiai védekezési próbálkozások minden alkalommal negatív eredményt adtak. Legnagyobb problémát a fungicid kéregbe juttatása okozta, amely igen nehezen kivitelezhető, és csak alacsony hatékonysággal lehet megoldani (Eke, Gál 1975). Elkins és munkatársai (1978) a benomil különféle koncentrációjának talajba injektálása után vizsgálták annak kéregbe jutását. Bár kimutatták a fungicid transzlokációját a növényekben, az alacsony koncentráció miatt nem ért el megfelelő hatást. A hazai kézikönyvekben javasolt eljárás – a kéreg lemosó permetezése réztartalmú szerekkel – átmenetileg jó megoldást jelent. (Radócz 2002).

### 3.5.3. Mechanikai védekezés

A rendszeresen elvégzett tisztítások – a fertőzött részek eltávolítása, elégetése, és a vágásfelületek lezárása – nem állítja meg, de nagymértékben lassítja a betegség terjedését. Ezek a módszerek csak gesztenye-ültetvényekben kivitelezhetők (Szabó 2003).



15. ábra A szaprofitonként sporuláló kórokozó újabb fertőzéseket okoz a koronában (fotó: Vidóczy H.)

### **3.5.4. Biológiai védekezés**

Az eddigiekben ismertetett védekezési módok nem voltak alkalmasak a betegség gyógyítására, vagy megelőzésére, illetve a járvány megállítására. Éppen ezért biológiai védekezési módszerek irányába is kezdődtek kutatások, ezeknek a kutatásoknak két fő irányuk volt, amelyeket a következőkben ismertetek.

#### **3.5.4.1. Biológiai védekezés antagonista mikroorganizmusok felhasználásával**

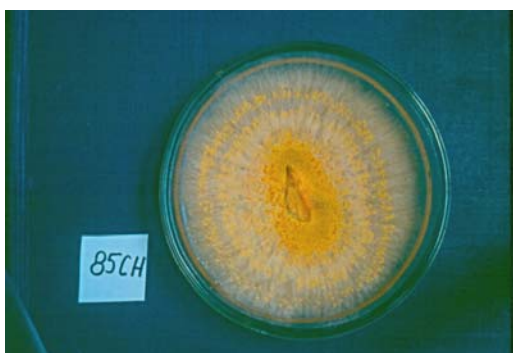
Amerikai kutatók talajban élő *Trichoderma* fajokat izoláltak és teszteltek mint a *C. parasitica* antagonistáit. Megállapították, hogy e gombafajokkal fertőzött talajjal fedve szelídgesztenye oltványokon az oltás során keletkező sérüléseket, helyileg kielégítően megelőzhető a betegség. A módszer a már kialakult nektrózisokon is alkalmazható, azok növekedését gátolja, viszont csak a kertekben álló gesztenyéken, ott is csak a törzs alacsonyabb részein kivitelezhető, gyakorlati jelentősége csekély (Roane és munkatársai 1986).

#### **3.5.4.2. Biológiai védekezés a kórokozó hipovirulens törzseinek felhasználásával**

A kórokozó ellen egyetlen hatásos védekezési módot ismerünk, ennek gyökerei 1953-ba Olaszországba nyúlnak vissza, amikor is Biraghi gyógyuló nektrózisokat talált egy Genova melletti gesztenye-ültetvényben: a kéreg alatt a szövetek életképesek maradtak, a hajtások sem száradtak el, és maga a kórokozó is csak gyengén sporulált. Ezen a felfedezésen alapul a kórokozó ellen alkalmazható biológiai védekezés (Turchetti és munkatársai 1996).

1965-ben Grente az ilyen abnormális nektrózisokból pigmenthiányos, mérsékelt virulenciájú ún. „hipovirulens” gombatörzseket izolált. A hipovirulens jellegű kórokozó csak a kéreg felületei rétegeiben élt, a kambiumot nem pusztította el, így a fertőzött fák életben maradtak. Megállapította, hogy az ilyen csökkent virulenciájú törzsek képesek ezt a tulajdonságukat átadni más, normális törzseknek is. A későbbiekben Grente és Sauret (1969) arra a következtetésre jutottak, hogy a hipovirulencia okozója a gombasejtek citoplazmájában található, és könnyen átadható két, egymással vegetatív kompatibilis gombaegyed között. A 16. ábrán jól láthatók egy narancsszínű, erősen pigmentált virulens

törzs tenyésztete és a tipikus magyarországi hipovirulens törzsek tenyésztetei közti különbségek.



A (fotó: Vidóczy H.)



B (fotó: Szabó I.)

16. ábra Típusos virulens (A) és hipovirulens (B) tenyészteti jellegek

Day és munkatársai (1977) bebizonyították, hogy a hipovirulencia okozója egy víruszerű részecske: a hipovirulens törzsek citoplazmájában kettősszálú (double-stranded) RNS (dsRNS) található, amelyet hifa-anasztomózisokon keresztül képesek átadni a virulens törzseknek, így a nektrózisok gyógyíthatók. Ez a transzmisszió viszont nem minden esetben történt meg: csak akkor, ha a két törzs között hifa-hidak alakultak ki, tehát vegetatív kompatibilitás állt fenn közöttük. Teljes mértékű kompatibilitás áll fenn, amennyiben a kompatibilitást szabályozó génben az összes allél azonos mindkét vizsgált gombatörzsnél. Ennek az ellenkezője a teljes inkompatibilitás. A két eset között számos átmenet létezik (Anagnostakis, 1977).

A kettősszálú RNS-ek átadására alapozott biológiai védekezés első lépése tehát a kórokozó populáció-struktúrájának vizsgálata. Ezért laboratóriumi tesztek elvégzésével vegetatív kompatibilitási típusokat (vegetative compatibility type – vc-type) határoztak meg a *C. parasitica* populációkon belül. (Anagnostakis, Waggoner 1981).

MacDonald és Double megállapították, hogy minél nagyobb mértékű a gesztenye-populációban a kórokozó jelenléte, annál több kompatibilitási típust lehet azonosítani. Négy 20x20 méteres mintaterületen 5-13 kompatibilitási típust különítettek el. Kuhlman hasonló eredményekről számolt be: 0,5 hektáros területen 12-15 kompatibilitási típust azonosított (in Roane és munkatársai 1986).

Anagnostakis adatai szerint már 1983-ban 77 vegetatív kompatibilitási típus létezett az Egyesült Államokban. Ez azt jelenti, hogy legalább 128 különböző kompatibilitási típus létezik - 7 locust és két-két allélt számítva.

Olasz kutatók 1995-ben 19 különböző kompatibilitási típust határoztak meg. (Causin és munkatársai 1995). 1998-ban kezdődött az a nemzetközi kutatás, amelynek során az egyes európai országokban azonosított vegetatív kompatibilitási típusokat egységes rendszerbe foglalták. Első lépésként 31 EU-teszter törzset határoztak meg a kórokozó Svájcban és Olaszországban izolált törzseiből. Hozzáadték, hogy a hat *locust* és két-két allélt számítva potenciálisan 64 vegetatív kompatibilitási típus létezik (Heiniger és munkatársai 1998).

Néhány évvel később francia kutatók (Robin és munkatársai 2001) - az addigi EU-teszter törzseket kiegészítve - már 74 különböző vegetatív kompatibilitási típusba sorolták a törzseket.

A hipovirulencia tényezőjét a kettősszálú RNS-t egy 12,7 kbp nagyságú molekulában határozták meg (Dodds 1980). Nevezéktanilag a *Hipoviridae* *genus*-ba soroljuk, európai típusa a *Cryphoncetria hypovirus 1* (CHV-1). Svájci kutatók kilenc európai országból származó mintát vizsgáltak meg RFLP-vel, majd az eredményeket cluster-analízisnek vetették alá. A 20 éves periódus alatt gyűjtött mikovírus-izolátumok többsége egy típusba sorolható: a Franciaország kontinentális részéről származókat kivéve gyakorlatilag ebbe tartozik az összes izolátum. A francia mellett két, abból származtatható altípust találtak. Vizsgálataik alátámasztják azt a feltételezést, miszerint a CHV-1 több hullámban, egymástól izoláltan jelent meg az európai *C. parasitica* populációkban. (Allemann és munkatársai 1999). A francia és európai mikovírusok eltérő telepjelleggel idéznek elő. A francia típusú mikovírust tartalmazó gombatörzsek laboratóriumi tenyésztete gyenge növekedést mutat és a telep pigmentált, ellenben az európai típus erőteljesen növekedő, fehér színű telepeket eredményez.

A hipovirulens törzsek vektorai a virulens törzsekéihez hasonlóak, ellenben terjedésük lényegesen lassabb, a gyenge konídium-képzés és a csak elvétve előforduló ivaros szaporodás miatt. Turchetti (1982) javaslata szerint a szelídgesztenye ültetvényekben hektáronként 50-100 mesterséges fertőzést kell kivitelezni, és ez által elterjeszteni a kórokozó hipovirulens törzseit.

A kezdeti kuratív gyógyítási kísérletekben francia kutatók mesterségesen előidézett nekrozisokat oltottak körbe hipovirulens inokulummal. Néhány hónapon belül kallusz képződött a seb körül, majd új, cserepesen felrepedező kéreg fejlődött rajta. A sikerek hatására Franciaországban nagyszabású védekezési programot indítottak a gesztenyetermelő gazdák aktív részvételével (Roane és munkatársai 1986).



A dsRNS transzmisszió alapuló, és emellett gazdaságosan és hatékonyan végezhető biológiai védekezés legnagyobb problémája a nagy számú vegetatív kompatibilitási típus jelenléte egy-egy területen. Olasz kutatók 1991-ben olyan mesterséges inokulációs kísérletekről számoltak be, amelyekben vegetatív inkompatibilis törzsek ellen alkalmaztak kombinált hipovirulens inokulumot (Turchetti és Maresi 1991). Öt, kölcsönösen inkompatibilis virulens törzs okozta nektrózisokat oltottak körbe hipovirulens inokulummal. Kísérletükben négy, egymás közt kompatibilis hipovirulens törzssel végezték az oltást oly módon, hogy az oltási pontok egy képzeletbeli négyzet négy sarkán helyezkedtek el. A dugófúróval ejtett lyukakba más-más inokulum került. Azt tapasztalták, hogy ezekben az *in situ* kísérletekben megtörtént a transzmisszió, és egy évvel később szépen gyógyuló, hipovirulens inokulumot termelő nektrózisok keletkeztek.

Amerikai kutatók, Hogan és Griffin (2002) felhívják a figyelmet arra, hogy a gesztenyével elegyes erdőkben a kéregrák biológiai kontrollja a hipovirulens törzsek magas frekvenciájával tartható fenn. Fontos, hogy ezek a hipovirulens nektrózisok az uralkodó szintben levő amerikai szelídgesztenyék törzseinek legyenek jelen. Y.-C. Liu és munkatársai (2002) kiemelik a szelídgesztenye epidémia utáni lecsökkent elegyarányát az erdőterületeken mint a hipovirulencia terjedésének korlátozó tényezőjét. Vizsgálataik szerint a kijuttatott hipovirulens törzsek huszonöt év elteltével is jelen vannak a megmaradt sarjakon, miközben a különböző molekulatömegű *Cryphonectria hipovírusok* (CHV-3, CHV-4) hibridizálódtak egymással.

Néhány törzsre a hipovirulencia instabilitása a jellemző: egy gyógyuló rákosodást képező olasz törzs a későbbi patogenitási tesztben virulensnek bizonyult. Ugyancsak előfordulhat, hogy hipovirulens törzsek párosodásával – ami egy ritka jelenség - keletkező aszkospórák nem tartalmazzak dsRNS-t (Turchetti és munkatársai 1996).

Külföldi tapasztalatok alapján a szelídgesztenye fennmaradásának a feltétele a hipovirulens gombatörzsek minél nagyobb arányú jelenléte és fokozatos túlsúlyba kerülése a kérdéses területen. Ez az európai szelídgesztenye-állományokban egy természetes folyamat, amely emberi beavatkozás nélkül is végbemehet. Viszont magunk is felgyorsíthatjuk, szükség esetén elindíthatjuk - egyrészt preventív, másrészt az ültetvényekben gazdaságosan végezhető, látványos gyógyulásokat eredményező kuratív kezelésekkel. Preventív kezelésként hektáronként 400 mesterséges fertőzés a javasolt (Turchetti és munkatársai 1996).

### 3.6. Növény-egészségügyi előírások

A *C. parasitica* az EPPO (European Plant Protection Organisation) határozata alapján A2-es kórokozónak számít. A karantén rendelkezések célja, hogy megakadályozza a betegség bevitelét a kéregráktól mentes régiókba.

Az Európai Unió országaiban érvényben van a 2000/29/EC direktíva, amely az unió országain belül meghatározza a növényültetvény-köteles fajok listáját. Eszerint a *C. parasitica* kórokozó miatt az alábbi növényekre, növényi részekre vonatkoznak előírások:

- *Castanea sativa* (Mill.) faanyag kéregben,
- *Castanea sativa* (Mill.) kéreg,
- *Castanea sativa* (Mill.) és *Quercus* spp. növények.

Növény ütleve kiállítható, ha:

- a felsorolt növények és növényi részek kéregrák-mentes területről származnak,
- a bizonytalan fertőzöttségű területről származó gesztenye-faanyag kérgezett,
- a biztosan fertőzött területről származó gesztenye-faanyag kérgezett,
- a *Castanea* és *Quercus* növények esetén a növényvédelmi szolgálat igazolása szerint a szaporítóanyag előállításának helye és annak közvetlen környezete az utolsó vegetációs ciklus kezdete óta mentes a kórokozótól.

Fertőzött, vagy vélhetően fertőzött kéreg nem szállítható el eredeti területéről (Seemann 2001).

A gomba az 5/1988. MÉM rendelet értelmében hazánkban is zárlati kórokozónak számít és az ellene való védekezés kötelező. A fertőzött faanyag szállítására, felhasználására, a szaporítóanyagok és termékek importjára, valamint a kötelezően meghatározott mechanikai védekezések végrehajtására vonatkozó előírások pontos betartásával a kórokozó kártétele mérsékelhető (Radócz 2002).

## 4. Anyag és módszer

Ebben a fejezetben részletesen ismertetem az általam végzett vizsgálatok metodikáját.

### 4.1. A Soproni-hegység természeti viszonyai

A Soproni-hegység természeti viszonyait Danszki (1963) alapján ismertetem.

#### 4.1.1. Földrajzi fekvés

A vizsgált terület, a Soproni-hegyvidék a kelet-alpi szórványrögök egyike. Erdőgazdasági besorolása a következő

erdőgazdasági tájsoport: *Nyugat-Dunántúl*,  
erdőgazdasági táj: *Soproni-hegyvidék*,  
erdőgazdasági tájrészletek: *Brennbergi-medence*,  
*Várisi-hegyvidék*.

A két tájrészlet határa az Ágfalva-Köves-árok vonal.

#### 4.1.2. Geológiai viszonyok

A Soproni-hegység nemcsak földrajzi értelemben tartozik az Alpokhoz, kőzetei valóban rokonságban állnak a Keleti-Alpok kristályos kőzeteivel.

A hegység legerősebben átalakult kristályospalái a Brennbergbánya környékén található biotit-csillámpalák. Keletkezésük - agyagos kőzetekből - a variszkuszi hegységképződés idejére tehető, koruk 150 millió év. A területileg jelentős másik fő kőzettípus a gneisz, amely - a csillám-palákkal ellentétben - gránitból keletkezett. A gránit variszkuszi korú, belőle a gneisz az alpi hegységképződés idején kristályosodott ki a csillámpaláknál alacsonyabb nyomásviszonyok között. Az alpi erőhatások a palákat egymásra tolva alakították ki a mai geológiai szerkezetet. A hegység harmadik, területileg alárendelt, de különlegesen szép, hófehér kőzettípusa a leukofillit. Előfordulása a csillámpala és a gneisz határán jellemző.

### **4.1.3. Domborzati viszonyok**

A Soproni-hegyvidéken 220-550 m közötti a tengerszint feletti magasság. Nevezetes csúcsai az Asztalfő (551 m), Muck (507 m), Ultra (479 m), Várhely (482 m), Károly-magaslat (394 m). A fő gerincek nyugat-kelet irányúak, róluk számos völgy ereszkedik alá (Tacsi-árok, Tolvaj-árok, Kecse-patak völgye, Rámel-árok). A viszonylag éles tagoltság miatt nagy jelentősége van a kitértségnek, lejtésnek.

### **4.1.4. Éghajlat**

A szubatlantikus hatásnak köszönhetően a Soproni-hegyvidék az ország egyik legkiegyenlítettebb klímájú területe. A nyár meleg, de nem aszályos, a tél viszonylag enyhe. A hőmérséklet évi közepes ingása kicsi. Az évi középhőmérséklet 8-9 °C (januárban -1,5 °C, júliusban +19,5 °C).

A csapadék évi eloszlása egyenletes; tavaszi első és szubmediterrán hatást jelző őszi másodmaximummal. Évi átlagos értéke 730-920 mm.

A júliusi 14 órás légnedvesség 57%, ez az érték gyertyános-tölgyes klímának felel meg. Megerősíti ezt a Konček-féle nedvesség-ellátottsági index, ennek értéke 16,3. A domborzati tagoltság következtében a tájrészlet mezo- és mikroklímákban gazdag.

### **4.1.5. Talajviszonyok**

A hegyvidéken a talaj képződésében meghatározó a savanyú alapkőzet, a viszonylag nagy évi csapadék, és az erdő hatása.

Leggyakoribb talajtípus a kedvezőtlen tápanyag-feltáródású, rossz vízgazdálkodású savanyú, nem podzolos barna erdőtalaj. Magasabb fekvésű, északi kitértségű területeken podzolos barna erdőtalajok is kialakultak. Sík terepen pangóvíz hatására pszeudoglejes barna erdőtalajok képződtek. Előfordul az erdőtenyészet optimális agyagbemosódásos barna erdőtalaja is. Völgyekben a lejtőhordalék, öntés- és láptalajok, erodált területeken vázta talajok a jellemzők.

#### 4.1.6. Növényföldrajz

A tájrészlet növényföldrajzi besorolása az alábbi:

- Kelet-alpesi flóratartomány (*Noricum*),
- Magyar Alpokalja flóraidék (*Praenoricum*),
- Sopron-kőszegi flórajárás (*Ceticum*).

A táj növényvilága is az Alpok közelségét jelzi. A patakok mentén megtalálható a dealpin havasi éger (*Alnus viridis*). Tájképileg uralkodó típusjelzők a boreális, montán fekete áfonya (*Vaccinium myrtillus*) és az atlantikus, montán csarab (*Calluna vulgaris*). Elegyfaként gyakori a szelídgesztenye (*Castanea sativa*). Elterjedt növény a szubatlantikus erdei ciklámen (*Cyclamen purpurascens*).

#### 4.2. Terepi vizsgálatok

A terepi felmérés célja az volt, hogy az egyes erdőrészekben megállapítsam a fertőzöttség mértékét, és a laboratóriumi vizsgálatok céljára kéregmintákat gyűjtsék a fertőzési gócból. A másik terepi feladat egy olyan kísérleti terület kijelölése és fenntartása volt, amely a hipovirulens kezelések gyakorlati alkalmazásának vizsgálatát szolgálta.

##### 4.2.1. A kórokozó elterjedésének felmérése

A Soproni-hegységben végzett felmérés alapjául a szelídgesztenye mint gazdanövény előfordulását bemutató térkép szolgált. A Tanulmányi Erdőgazdaság Rt. Soproni Erdészeti üzemtervi erdőrészet-adatait *Digiterra* térképkezelő program segítségével tematikus térképen jelenítettem meg. A programmal leválogattam a szelídgesztenyével elegyes erdőrészeket, ezekhez adtam az általam kigyűjtött erdőrészeket, melyekben csak szórványban, számottevő elegyarány nélkül található meg a fafaj. A terepi felmérés a hegyvidékhez tartozó három község határt ölelte fel, és 4070 hektárt érintett:

Sopron – 3790 ha,

Ágfalva – 120 ha,

Harka – 160 ha.

1996 őszén történt meg a részletes terepi felmérés. A fertőzöttség megállapítása az egyes erdőrészekben vonalas mintavétellel történt. A felvételezés során minden erdőrészetben, ahol a betegség megtalálható volt, a laboratóriumi vizsgálatok céljára mintát gyűjtöttem.

#### 4.2.2. A terepi kísérleti terület - Ágfalva

Ágfalva déli határában található egy fiatal, 1970-as években telepített ültetvény jellegű gesztenyés (17. ábra). A kőszegszerdahelyi és iharosberényi fajtákból álló ültetvényben a sorok távolsága 10 méter, a tőtávolság változó. A fák magassága 5-8 méter, ami lehetővé teszi a magasabban található nekrozisok biztonságos kezelését is. A terület kezelői minden évben kivágták és elégették az elpusztult fákat, így a járvány terjedése ebben az ültetvényben mérsékeltebbnek mondható.



17. ábra Ágfalvi gesztenyés (fotó: Vidóczy H.)

A terület jellemző termőhelyi adatai:

- |                                 |                           |
|---------------------------------|---------------------------|
| - tengerszint feletti magassága | 250 m,                    |
| - kitettsége                    | északkeleti,              |
| - lejtése                       | 10 fok,                   |
| - vízgazdálkodási foka          | üde,                      |
| - klímája                       | gyertyános-tölgyes,       |
| - talaja                        | podzolos barna erdőtalaj, |

- termőréteg vastagsága	középmély,
- hidrológiai viszonya	vízhatástól független,
- fizikai talajfélesége	vályog.

#### 4.2.2.1. Hipovirulens kezelések

1996 tavaszán három beteg fa oltásával kezdődtek az első hipovirulens kezelések a területen. 1996 őszétől 2000-ig rendszeresen elvégeztem a szükséges oltásokat, eltávolítottam a beteg ágakat és értékeltem az eredményeket.

Az „oltás” a gyakorlatban azt jelenti, hogy minden egyes nekrozist a megfelelő hipovirulens gombatörzs laboratóriumi tenyészetével körbeoltunk. Az oltásokhoz a seb szélén, de a még élő kéregbe egymástól 4-5 cm-re lyukakat fúrunk ( $\varnothing$  6 mm), ezekbe helyezük a gombafonalakkal átszótt táptalaj-darabkát, majd gombaölőszert nem tartalmazó, méhviasz-tartalmú, hidegben is könnyen kenhető sebkezelővel (pl. BIOCERA) lezárjuk a lyukat (*18. ábra*).



*18. ábra* A nekrozist körülvevő furatok, ezekbe kerül majd az oltóanyag (fotó: Vidóczi H.)

Több, erősen sporuláló rákosodás esetén a leváló, fertőzött kérget eltávolítottam, ezzel is csökkentve a további fertőzéseket.

Radócz László és kollégái izolálták a területen található törzset (A3), amelyet egy francia származású hipovirulens törzzsel (Bf) sikerült konvertálniuk. Az így átalakított A3xBf törzs tenyésztésével történtek az első kezelések (1-3 fa) az ágfalvi gesztenyésben 1996 tavaszán.

Néhány esetben sikertelennek tűnt az oltás, ezekből a nektrózisokból mintát vettem, izoláltam a gombát, és kompatibilitási tesztet végeztem vele és a hegyvidéken található törzsekkel. Ennek eredményeképp oltásokat végeztem az S21xR5 törzzsel (S = Sopron, R = Rezi). Később részletezem a hipovirulens tenyészetek előállítását.

A későbbiekben a bizonytalan gyógyulást mutató nektrózisok esetén kombinált kezelést is alkalmaztam: a lyukakba felváltva helyeztem a két konvertált törzs tenyészetéből.

Eltérő jellegű kezelést alkalmaztam néhány esetben: súlyosan fertőzött (a törzs bármely részén a kéreg és a kambium legalább 50 %-os pusztulása, a koronában főágain három vagy több nektrózis), nagyszámú rákosodástól szenvedő fáknál nem csak a nektrózisokat oltottam körbe, hanem a törzset is hosszában végigoltottam, a tőtől kezdve az erősebb vázágakon folytatva egészen a koronáig.

### **4.3. Laboratóriumi vizsgálatok**

A laboratóriumi vizsgálatok célja a Soproni-hegyvidéken gyűjtött kéregmintákból a kórokozó törzseinek izolálása, a törzsek kompatibilitási viszonyainak feltárása, virulenciájuk meghatározása, végül a virulens törzsek konvertálása, s így az alkalmazott biológiai védekezés céljára hipovirulens inokulum nyerése.

#### **4.3.1. Klasszikus vizsgálatok**

A klasszikus vizsgálatok során a kitenyésztett és vélhetően hipovirulens törzseket két különböző virulencia tesztnek vettem alá. Ezek után meghatároztam az izolált gombatörzsek egymással, és EU-teszter törzsekkel szembeni kompatibilitási viszonyait. Legvégül a Soproni-hegyvidéken elkülönített domináns vegetatív kompatibilitási típusokat magyarországi hipovirulens törzsekkel konvertáltam.



#### 4.3.1.1. Tiszta törzstenyészetek létrehozása

A kéregmintákból steril szikével néhány mm<sup>2</sup>-es, hifával átszőtt hánccszövet-darabkát 5 percre 10 %-os NaOCl-oldatba helyeztem, majd steril desztillált vízzel átöblítettem, és ezt követően 10 ml maláta-kivonatós agart tartalmazó petri csészébe helyeztem. Egy-egy petribe négy, azonos kéregmintából származó izolátum került. A tenyészeteket szobahőmérsékleten, sötétben inkubáltam. A fejlődő *C. parasitica* telep legtisztábbnak ítélt részéből néhány nap elteltével átoltást végeztem burgonya-dextróz (PDA) agarra, mivel ezen a táptalajon kifejezőbbek a tenyészeti jellegek. A letisztult gombatörzset fenntartás céljából átoltottam kémcsőbe is, amit a későbbi vizsgálatokig hűtőszekrényben tároltam.

Egy másik módszer szerint a néhány cm<sup>2</sup>-es kéregmintát helyeztem 5 percre 10 % NaOCl-oldatba, majd steril desztillált vízzel átöblítettem, és sztereomikroszkóp alatt a szike hegyével emeltem ki egy-egy piknídium-darabkát a sztrómákból. A továbbiakban a fent leírtakhoz hasonlóan kezeltem a tenyészeteket.

#### 4.3.1.2. Virulencia-tesztek

A törzsek virulenciáját két különböző módszerrel vizsgáltam: *in vitro* fertőzve alma gyümölcsöket és szelídgesztenye hajtásokat.

Az első kísérletben tíz különböző gombatörzssel oltottam be almákat, gyümölcsönként négy –négy inokulációt végeztem négy különböző gombatörzssel az alábbiak szerint:

S10-S6-S9-S11	10x,
S10-S12-S13-S15	10x,
S10-S18-S19-S21	10x.

A négy törzs között kontrollként mindig szerepelt az S10 jelű, nyílt rákosodásból származó, és tenészejellege alapján is erősen virulensnek mutatkozó törzs. Az inokulációhoz 5 mm-es dugófúrót használtam, ezzel készítettem a lyukakat az almákba, és ezzel emeltem ki a *C. parasitica*-val átszőtt táptalaj-darabkákat is a petri-csészékből. A

fertőzések helyét ragtapasszal zártam le. Az almákat ezután sötétben, 10 napig inkubáltam, majd lemértem a léziók nagyságát (19. ábra).



19. ábra Virulencia teszt almán (fotó: Vidóczi H.)

Más módszerrel is végeztem virulencia-tesztet: nyugalomban lévő, kb. 1,5 cm átmérőjű, 30 cm hosszúságú gesztenye-sarjakat fertőztem meg különböző gombatorzsekkal.

Elsőként a hajtások végeit lezártam paraffinnal, majd a felület fertőtlenítését követően 5 mm-es dugófúróval készített lyukakba helyeztem a hasonló méretű, aktívan növekvő micéliumot tartalmazó táptalaj-darabkákat. Minden hajtáson két inokulációt végeztem, ezeket ragtapasszal zártam le. Minden egyes gombatorzssal 10 hajtást fertőztem. A léziók 14 napos inkubáció után kerültek kiértékelésre. A kéreg alatt fejlődő gomba a háncs barna elszíneződését okozta. A vékony héjkérget a fertőzés környezetében eltávolítottam, így a léziók területe jól mérhetővé vált (20. ábra).

Ebbe a vizsgálatba a következő törzseket vontam be: S1, S9, S18, S19, S21.

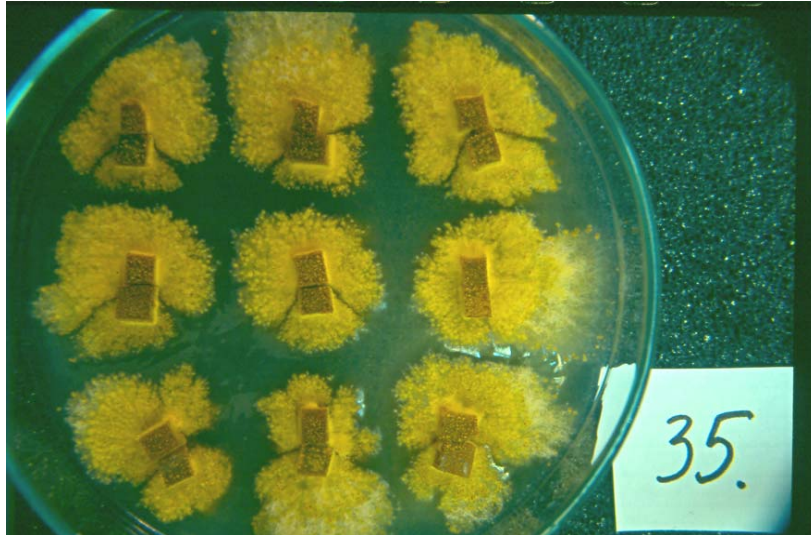
Négy törzs vagy tenyészejellegében, vagy a származását tekintve csökkent virulenciájúnak tűnt. S1 erősen virulens törzset választottam kontrollnak.



20. ábra *In vitro* fertőzött gesztenye-hajtások (fotó: Vidóczy H.)

#### 4.3.1.3. Kompatibilitási vizsgálatok

A vegetatív kompatibilitási tesztekhez dúsított burgonya-dextróz-agart használtam (plusz 100 mg/l L-methionin, 1 mg/l biotin). Két-két mintából az egy hetes tenyésztést követően 5x5 mm-es darabkát tenyésztettem párban, szorosán egymás mellé helyezve. Egy petri csészébe 9 mintapár került (21. ábra). Szobahőmérsékleten 7 napig sötétben, majd 7 napig természetes fényben történő inkubálást követően értékeltem ki a mintákat. Az első teszt során 26 minta teljes körű vizsgálatát végeztem el ily módon, kétszeri ismétlésben.



21. ábra Kompatibilitási teszt (fotó: Vidóczi H.)

Az ily módon meghatározott kompatibilitási típusokból egy-egy törzset kiválasztottam, és ezeket hasonlítottam az európai teszter törzsekhez (Cortesi és munkatársai 1998), illetve a későbbiekben gyűjtött soproni törzseket. Harminc európai teszter törzset használtam (1. táblázat).

A kutatás folyamán többször felkerestek gesztenye-termesztéssel foglalkozó kistermelők. Ennek köszönhető, hogy az Alsó- és Felső-Lővérekéből és a város melletti gesztenyésekéből (Fáber-rét, Kutya-hegy, Újhegy) is gyűjtöttem mintákat, amelyeket szintén kompatibilitási vizsgálatnak vettem alá. Így még körülbelül húsz, újabb törzs kompatibilitását határoztam meg a későbbi vizsgálatok során.

jele	származása	jele	származása
EU 1	Pian Ne, CH	EU 17	Lumino, CH
EU 2	Gorduno, CH	EU 18	Lumino, CH
EU 3	Bergamo, I	EU 19	Lumino, CH
EU 4	Gnosca, CH	EU 20	Pigna, I
EU 5	Vaernato-Ronco, CH	EU 21	Somazzo, CH
EU 6	Gnosca, CH	EU 22	Lumino, CH
EU 7	Bergamo, I	EU 23	Lumino, CH
EU 8	Gnosca, CH	EU 24	Lumino, CH
EU 9	Lumino, CH	EU 25	Gnosca, CH
EU 10	Teano, I	EU 26	Lumino, CH
EU 12	Gnosca, CH	EU 27	Gnosca, CH
EU 13	Bregaglia, CH	EU 28	Gnosca, CH
EU 14	Copera, CH	EU 29	Lumino, CH
EU 15	Gnosca, CH	EU 30	Lumino, CH
EU 16	Gnosca, CH	EU 31	Gnosca, CH

*1. táblázat* A kompatibilitási vizsgálatokhoz használt EU teszter törzsek  
(Cortesi és munkatársai 1998)

#### **4.3.1.4. Konvertálás**

Az egymással kompatibilis törzsek hifa-anasztomózisokon keresztül képesek egymásnak átadni a citoplazmában található kettőszálú RNS-t, így a virulens gombatörzsek hipovirulenssé alakíthatók. Laboratóriumi körülmények között ez az alábbi módszerrel történt.

Burgonya-dextróz agart tartalmazó petri-csészébe helyeztem két 5x5 mm-es, aktívan növekedő micéliumot tartalmazó táptalaj-darabkát, melyek közül az egyik virulens, a másik hipovirulens tenyészetből származott. 7 nap elteltével sikeres konverzió esetén az eredetileg virulens tenyészetet átoltottam új petri-csészébe.

A 22. ábrán látható egy sikeres és egy sikertelen konverzió.



A



B

22. ábra A - sikeres konverzió, B - sikertelen konverzió (fotó: Vidóczy H.)

A konvertáláshoz felhasznált hipovirulens gombatörzsek: Velem4 (V4), Sand3 (S3), Rezi5 (R5), Iharosberény2 (Ihb2) jelűek voltak.

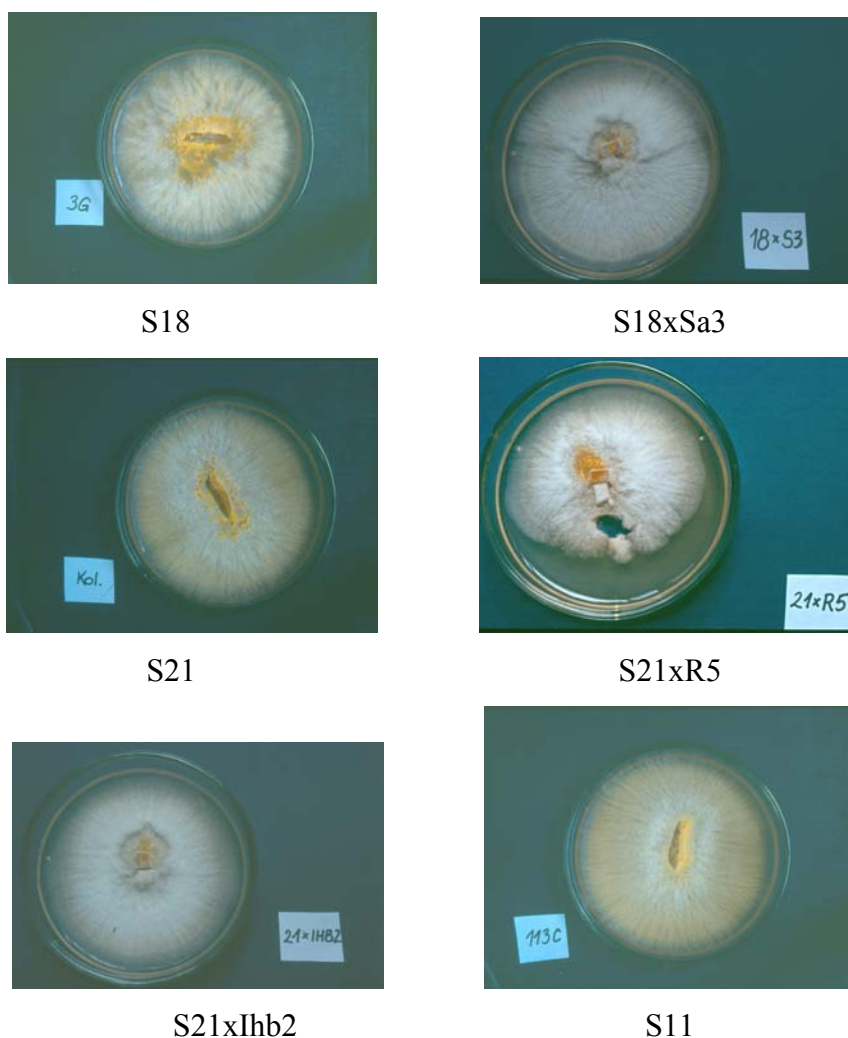
#### 4.3.2. Molekuláris biológiai vizsgálatok

A molekuláris biológiai vizsgálatokat Seibersdorfban, az Osztrák Kutatócentrumban végeztem. Két vizsgálatot végeztem, egyrészt a kettősszalú RNS-ek kimutatását, majd a konvertált törzsek genetikai azonosságának igazolását.

#### 4.3.2.1. A kettőszálú RNS kimutatása

A kettőszálú RNS-ek kimutatásának alapvetően két célja lehet.

Egyik cél a hipovirulencia igazolása egy a tenyésztellegre, vagy csökkent virulenciája miatt hipovirulensnek vélt gombatörzs esetében. A másik cél az átalakított, eredetileg virulens törzsek hipovirulenciájának bizonyítása. A vizsgálat alá vont törzsek az alábbiak voltak: S11, S18, S18xSa3, S21, S21xR5, S21xIhb2, An-hipovirulens és S23-virulens kontroll (23. ábra).



23. ábra Az alábbi, általam izolált, illetve konvertált törzsek kerültek a dsRNS vizsgálat alá (fotó: Vidóczy H.)

A kettőszálú RNS-ek kivonása Day és munkatársai (1977) ill. Dodds (1980) módszere nyomán az alábbi lépések szerint zajlott.



A kettősszálú RNS-ek kivonása és analízise fenolos extrakcióval történt. A kivonási sorozat mintáit 0,8 %-os agaróz-gélben, és TBE (Tris, bórsav, EDTA) pufferben 110 V-on elektroforetizáltam, a molekulákat ethidium-bromidos festéssel tettem láthatóvá.

#### 4.3.2.2. A gombatörzsek genetikai azonosságának igazolása RAPD analízissel

A RAPD amplifikáció célja a konvertált hipovirulens törzs és az eredeti virulens törzs genetikai azonosságának igazolása. Az RAPD amplifikációt Wronski és munkatársai (1997) után végeztem.

A DNS-t a dsRNS kivonás melléktermékeként keletkező felülúszó tartalmazta, amelyből első lépésként ultracentrifugával eltávolítottam a cellulóz-port. Ezután etil-alkoholos tisztítás következett, majd a DNS-t 2 ml desztillált vízben felfogva DNeasy-vel (QUIAGEN GmbH Germany) folytatódott az izolálás. A DNS-tartalmú oldat 15 µl reakció-keverékbe került: tetrametil-ammónium-klorid, dNTP (Pharmacia Biotech, Sweden), RNase (Boehringer Mannheim, Germany), DNS-polimeráz (Dynazyme, Finnzymes, Finland), és primer (Operon Technologies, USA). Hat tízbázisú oligonukleotid primerrel történt meg a reakció, ezek kódja, szekvenciája a 2. táblázatban van feltüntetve. Az RNS-emésztés után zajlott a polimeráz-lánreakció (PCR): denaturáció 50 cikluson keresztül (94 °C, 40'' majd 38 °C, 1'), az indítószekvencia DNS-szállhoz kötődése (38 °C, 1'), komplementer szálak szintézise (72 °C, 10'). A keletkezett fragmentumokat ethidium-bromidos festés után 1 %-os agaróz-gélben, TBE pufferben, 110 V-on választottam el, és UV fény alatt vizsgáltam.

Kód	Szekvencia (5'-3')
G02	GGCACTGAGG
G04	AGCGTGTCTG
G12	CAGCTCACGA
G13	CTCTCCGCCA
G14	GGATGAGACC
G15	ACTGGGACTC

2. táblázat Az RAPD-hez felhasznált primerek kódja és szekvenciája

Két virulens izolátumot (S18, S21) és ezek három, általam konvertált tenyészetét hasonlítottam össze RAPD analízissel.

A kapott eredmények értékeléséhez a GIMP (GNU Image Manipulation Program) programot használtam.

### **4.3.3. Kórélettani vizsgálatok**

A kórokozónak a növényre, illetve a növénynek a kórokozóra való élettani hatása a növényben lejátszódó, főleg biokémiai változásokkal jellemezhető folyamat. Az alábbiakban ismertetett kísérletekben a kórokozó anyagcseretermékeinek növényre kifejtett hatását, és a gazda-parazita *in vitro* kölcsönhatását vizsgáltam.

#### **4.3.3.1. Mikroszaporítás**

A szelídgesztenye mikroszaporítása nem képezte ennek a munkának a célját, az ily módon nevelt hajtástenyészeteket más vizsgálatokhoz használtam fel.

A szelídgesztenye regenerálódása kiváló, ezt a tulajdonságát *in vitro* mikroszaporítási eljárások során is tapasztalhatjuk. A következőkben ismertetem a steril kultúrába vitel és szaporítás fázisait.

##### **4.3.3.1.1. Sterilizálás**

Kiindulásként szelídgesztenye sarjakat gyűjtöttem, ezeket meghajtattam, és a kifejlődött, zöld hajtások apikális 5-8 cm-es részét használtam fel. A levelek és a pálhalevelek eltávolítása után a hajtásokat 15 percig folyó víz alatt átöblítettem, majd 30 másodpercig 70 %-os etanollal, ezután 5 percig 10 %-os hipoklórsavval fertőtlenítettem. Mindezek után háromszor átöblítettem steril desztillált vízzel.

#### 4.3.3.1.2. Iniciális fázis

A sterilizált hajtásokat kb. 1,5 cm-es darabokra osztottam, és WPM táptalajt (3. táblázat) tartalmazó kémcsövekbe helyeztem. A táptalajhoz a következő hormonokat adtam: 0,4 mg/l benzil-adenint és 0,1 mg/l naftil-ecetsavat. Két hét elteltével egy aktív fejlődésnek indult hajtást kiválasztottam, és ezután ezt a növényt szaporítottam tovább.

#### 4.3.3.1.3. Multiplikációs eljárás

A szaporításhoz saját preparálású P24 táptalajt (3. táblázat) (Teasdale 1992) használtam kiegészítve 0,2 mg/l BAP-nal. Egy-egy kémcsőbe 10 ml táptalaj került, ebbe helyeztem az explantátumokat, majd vattadugóval zártam le a kémcsövet. A tenyészeteket 16/8 órás fotoperiódus alatt (3500 lux megvilágításban), szobahőmérsékleten tartottam. A tenyésztési ciklus 4 hét volt. Ennek elteltével a kifejlődött hajtásokat tovább szaporítottam. Ehhez a hajtásokat 8 mm-es darabokra osztottam, a kalluszt is feldaraboltam, és a kapott szegmenseket áthelyeztem új táptalajra. A továbbszaporításhoz explantátumként felhasznált növényi részeket elkülönítve neveltem tovább, hogy megállapítsam, mely résznek a legnagyobb a multiplikációs rátája. Explantátumként 8 mm-es szárrész, apikális rész, teljes kis hajtás és kallusz szolgált. A 24. ábrán kallusz-eredetű tenyészetek láthatók. Négy hét inkubálási idő elteltével meghatároztam a kialakítható szegmensek számát, és a multiplikációs koefficienszt (Ballester és munkatársai 2001).



24. ábra Négy hetes, kallusz-eredetű hajtástenyészetek (fotó: Vidóczi H.)

Összetevők (mg/l)	P24	WPM
KNO <sub>3</sub>	253	
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>		400
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O		96
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	661	556
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	436	990
MgSO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O		370
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	408	170
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	192	
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	144	
NaCl	5,8	
Na <sub>2</sub> EDTA		37,3
FeNaEDTA	42,35	
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O		27,8
FeCl <sub>3</sub>	8,1	
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	7,44	6,2
MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	3,38	22,3
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	11,5	8,6
KI	0,6	
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O		0,25
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	0,0425	
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	2,5	0,25
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,05	
NiCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,0476	
myo-inositol	100	100
thiamin.HCl	0,1	1
nikotinsav	0,5	0,5
piridoxin.HCl	0,5	0,5
glicin		2
glutamin		2
arginin.HCl	400	
agar (g/l)	8	8
szacharóz (g/l)	30	30

3. táblázat P24 és WPM táptalaj összetétele (pH 5,9 – BAP 0,2 ppm)

#### 4.3.3.2. *In vitro* virulencia tesztek

A vizsgálat célja az volt, hogy megállapítsam, elkülöníthetők-e egymástól a virulens és a hipovirulens gombatörzsek *in vitro* patogenitási teszt segítségével.

A kísérletben 4 hetes, P24 táptalajon szaporított szelídgesztenye hajtásokat használtam. A hajtások szárát az alábbi *C. parasitica* törzsek tenyészetével fertőztem meg:

- S21 – virulens,
- S21 x R5 – konvertált, hipovirulens,
- R5 – hipovirulens,
- Kontroll - csak sebzés történt.

A fertőzéshez szikével kb. 2 mm-es, U alakú sebet ejtettem a száron, majd ebbe helyeztem az aktívan növekedő kb. 2 mm<sup>3</sup>-es micélium-darabkát. Egy-egy sorozatban 14 hajtástenyészetet fertőztem meg. A tenyészeteket szobahőmérsékleten, a megszokott megvilágításban tartottam, az eredményeket harminc nap elteltével értékeltem.

#### 4.3.3.3. Szelídgesztenye-növények fejlődése *C. parasitica*-kivonatot tartalmazó táptalajon

A vizsgálat célja az volt, hogy megállapítsam, a *C. parasitica* kórokozó tenyészetének kultúra-szűrlete (CF) milyen hatást gyakorol a szelídgesztenye-hajtások fejlődésére.

##### 4.3.3.3.1. *C. parasitica* kultúra-szűrlet

Az S10 jelű virulens törzs 10 napos, petri csészékben PDA táptalajon tartott tenyészeit használtam fel kiindulási anyagként. Ezekkel a tenyészetekkel oltottam be az 500 ml folyékony burgonya-dextróz táptalajt tartalmazó üveghengereket, egy-egy hengerhez fél petri csésze 5x5 mm-es kockákra feldarabolt tenyészetét adva. A folyékony tenyészeteket két hétig állandó forgásban tartva neveltem. Két hét elteltével a *C. parasitica* anyagcseretermékeit tartalmazó táptalajt steril fülkében, itatóspapír közé helyezett vattán átszűrtem.

#### 4.3.3.3.2. A szelídesztenye-hajtástenyészetek táptalaja

Első lépésben multiplikációs táptalajt készítettem (kétszeres erősségű P24 táptalaj plusz 0,4 mg/l BAP). Ebből és a *C. parasitica* kultúra-szűrletből négy különböző koncentrációjú táptalajt hoztam létre, az alábbi táblázat szerint:

<i>C.par.</i> -szűrlet koncentrációja a táptalajban %	A táptalaj összetevői		
	steril deszt. víz ml	P24 2x ml	<i>C.par.</i> - szűrlet ml
<b>0</b>	5	5	-
<b>10</b>	4	5	1
<b>20</b>	3	5	2
<b>50</b>	-	5	5

4. táblázat A különböző koncentrációjú  
táptalajok összetétele

Erre azért volt szükség, hogy változó *C. parasitica* kultúra-szűrlet koncentráció mellett a tápelemek mennyisége mind a négy sorozatban azonos legyen.

Egy-egy kémcsőbe tehát 10 ml, a *C. parasitica* kultúra-szűrletét eltérő koncentrációban tartalmazó táptalaj került a fenti táblázat szerint, majd ebbe helyeztem a szelídesztenye-hajtásokat. A tenyésztés első és huszadik napján megmértem a tenyészetek összes hosszúságát (tenyészetenként a hajtások hosszát, majd ezeket összeadtam). Feljegyeztem az apikális nektrózisokat. Egy-egy sorozatban (0%, 10%, 20% és 50% kultúra-szűrlet) 32 tenyészet növekedését vizsgáltam.

## 5. Eredmények és megvitatásuk

Ebben a fejezetben vizsgálatonként értékelem az alkalmazott vizsgálati módszerek hatékonyságát, az elért eredményeket és azok összefüggéseit. Mindezt összevetem hazai és külföldi szerzők korábbi tudományos eredményeivel is.

### 5.1. A *C. parasitica* előfordulása Soproni-hegyvidéken

A hegyvidéket szinte teljes egészében erdő borítja, csak a külső domblábakon található mezőgazdasági terület, illetve gyümölcsösök, főleg gesztenyések.

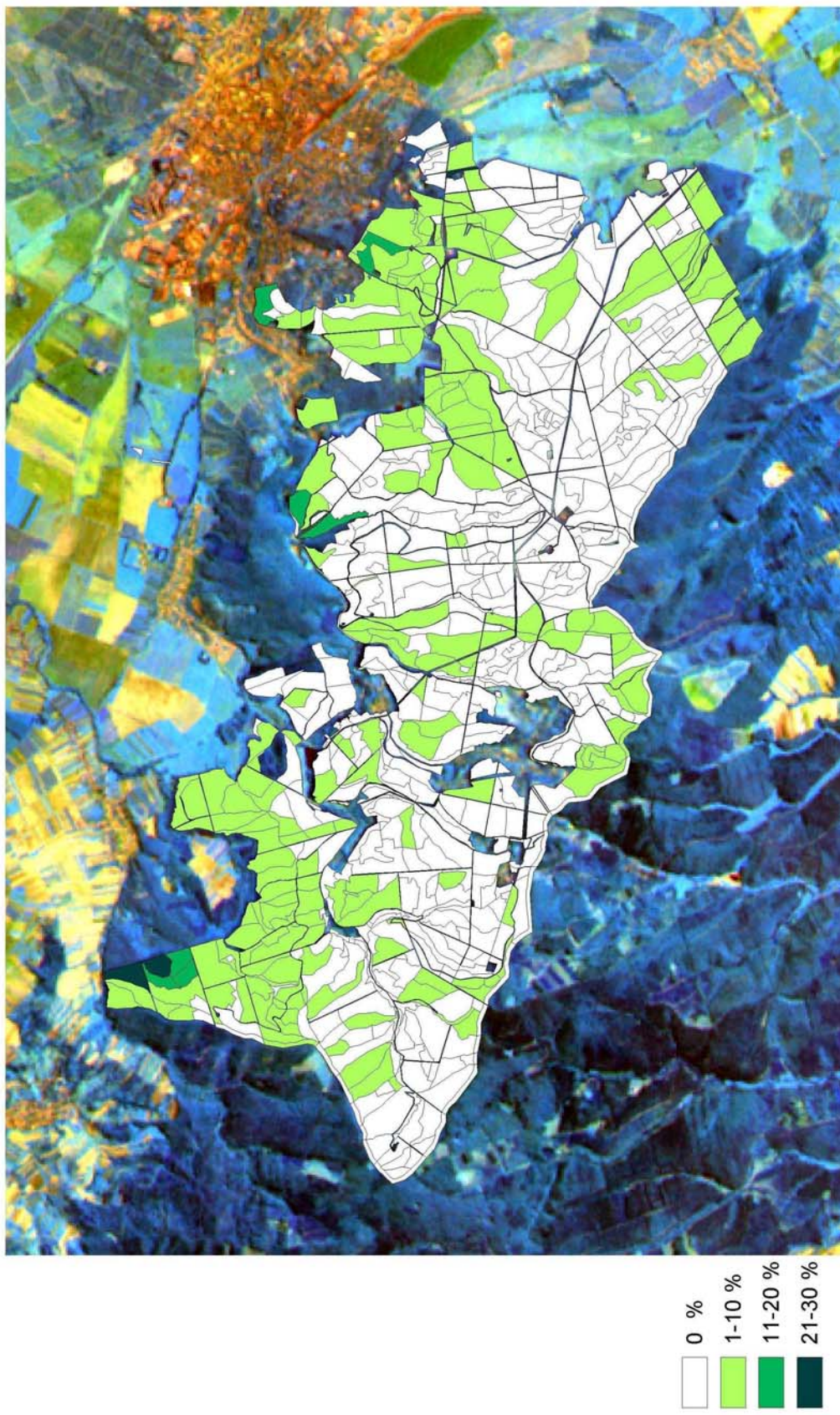
A hegyvidék természetes erdőtársulásai a gyertyános-tölgyesek, a Brennbergi-medencében a gyertyános-bükkösök. E két erdőtársulás aránya 40 %. Jellegzetes állományai a hegyvidéknek a fenyvesek, főleg a lucosok. A Várisi-hegyvidék podzolos talajain acidofil kocsánytalan tölgyesek tenyésznek.

A szelídgesztenye a Soproni-hegyvidék erdeinek jellemző elegyfafaja. Legnagyobb számban a városhoz közeli Várisi-erdőben fordul elő: a Dalos-hegyen, a Károly-magaslat alatt, a Kolostor-erdőben, a Nándor-magaslaton, a már említett Sánc-hegyen, az Ágfalvi-erdőben. Nagyon szép, gesztenyével egyes idős tölgyesek találhatóak a hegyvidék északi sarkában, a Liget-erdőben.

Számos gesztenye-ültetvény is található Sopron mellett. Ezek közül legnagyobb a bánfalvi Kutya-hegyen át egészen Ágfalváig nyúló, szőlőkkel, gyümölcsösökkel váltakozó terület. A Soproni-hegyvidék legismertebb gesztenyéje a Szalamandra-tó mellett található Fáber-réti gesztenyés, amely a Tacsai-árok mentén észak felé egyre inkább *Castanetum sativae* konszocióvá alakul, és a Sánc-hegy oldalában egészen a város pereméig húzódik, ahol szervesen csatlakozik a Gesztenyés-körúthoz. Sajnos ezek a külterületi gesztenyések sokszor osztatlan közös tulajdonban vannak, elhanyagoltak. Meg kell említenem még az Alsó és Felső Lővéreket, ahol a legtöbb kertben él egy vagy több szelídgesztenyefa.

A szelídgesztenye elterjedését mutatja a 25. ábra, illetve a 4. melléklet.





25. ábra A szelídgesztenye elegyaránya a Soproni-hegyvidéken

A Soproni-hegyvidéket járva azt kell tapasztalnunk, hogy ahol a szelídgesztenye elegyaránya számottevő, vagy elegyedési módja (foltos, csoportos) kedvez a gomba fertőzésének, ott a kórokozó mindenütt megtalálható. A Sopron közvetlen szomszédságában elterülő várasi erdőkben és Ágfalva határában a fertőzöttség a 30 %-ot is eléri. Ennél magasabb arány ill. pusztulás csak a gesztenye-ültetvényekben (Fáber-réti, Kutya-hegyi) lépett fel, minden valószínűség szerint a betegség is ezekről a kultúrterületekről indult ki és kezdett terjedni először csak a közeli erdőkbe, napjainkra azonban nem kímélve a hegyvidék északnyugati, eldugott sarkában élő *Castaneo-Quercetum* asszociációkat sem. Egyedül a hegységet K-NY irányban átszelő Rák-pataktól délre fekvő, a településektől távol eső erdők szórvány szelídgesztenyéi mentesek a *C. parasitica* kártételétől. Az erdőrésztlet-szintű felmérés eredményeit mutatja a 26. ábra és az 5. melléklet.

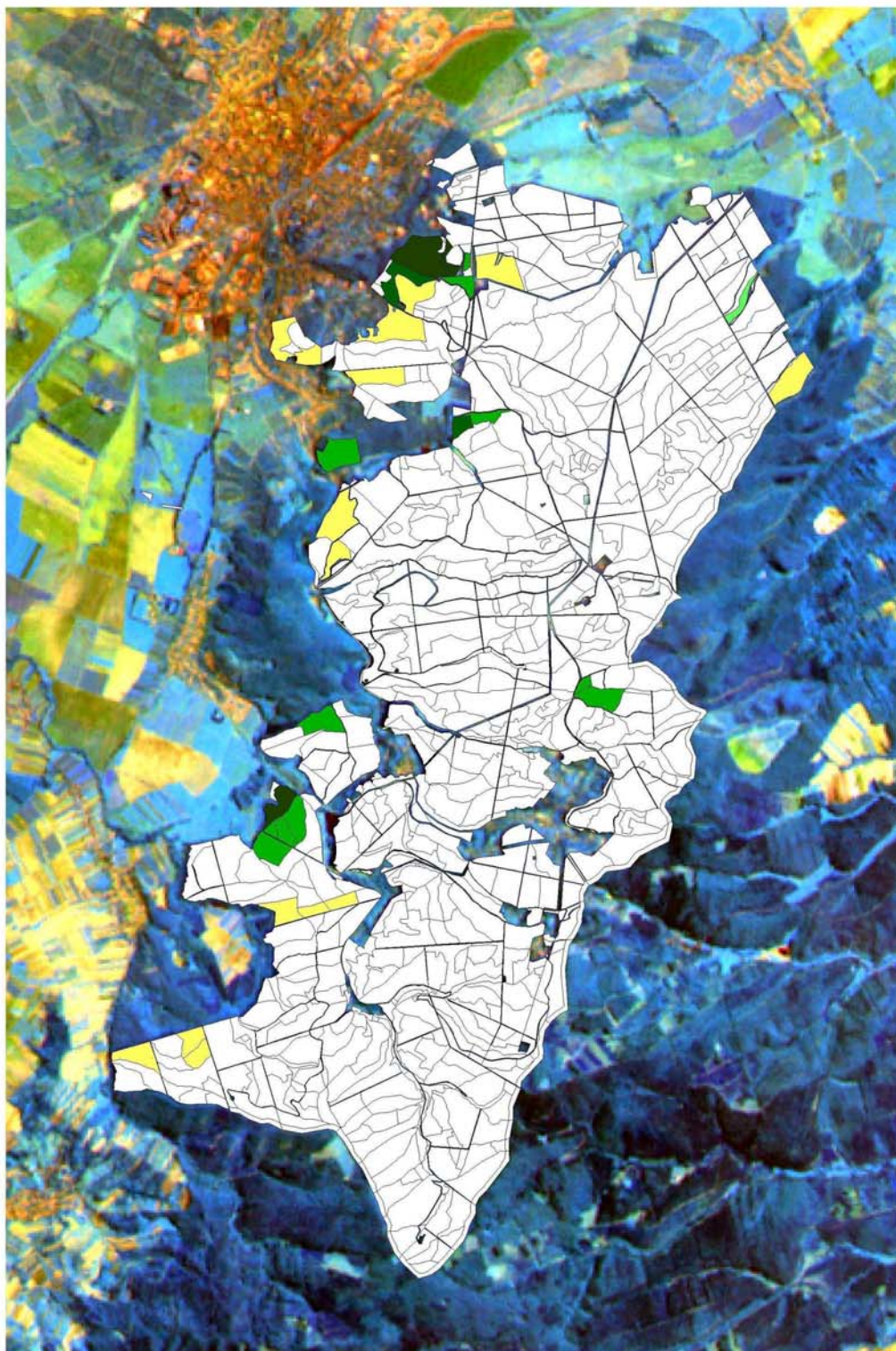
A terepi felmérés során gyűjtött és sikeresen izolált gombatorzsek jele S1-S21. A Nyugat-Magyarországi Egyetem Erdő- és Faanyagvédelmi Intézetének gyűjteményéből származó izolátumok S22-S25 jelűek. Ezt a 25 gombatorzset vetettem alá teljes körű kompatibilitási vizsgálatnak.

Későbbiekben a Tanulmányi Erdőgazdaság Rt. közreműködésével gyűjtött kéregmintákból izolált törzseket (S26-S41), illetve a saját gyűjtésből származó törzseket is vizsgálatba vontam (S42-S51).

A törzsek kitenyésztése során azt tapasztaltam, hogy erősen szennyezett kéregminta esetén csak a sztromatikus piknídiumokból induló tenyésztés vezetett eredményre, a hánccszövetből induló telepekből nem lehetett tiszta *C. parasitica* tenyészetet előállítani.

A kutatás folyamán többször felkerestek gesztenyetermesztéssel foglalkozó kistermelők. Ennek köszönhető, hogy Sopron kertvárosi részéből és a város melletti gesztenyésekből is gyűjtöttem mintákat, amelyeket szintén kompatibilitási vizsgálatnak vettem alá. Így még kb. húsz, a táblázatban nem szereplő törzzsel végeztem kompatibilitási vizsgálatot. Az izolátumok származási helyét az 5. táblázatban tüntettem fel





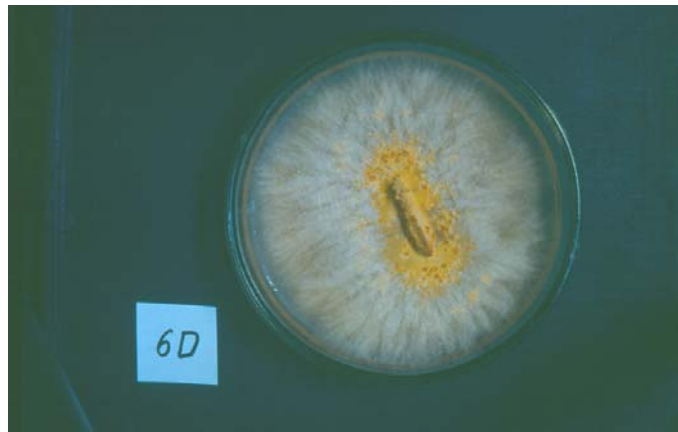
26. ábra A szelídgesztenye fertőzöttsége a Soproni-hegyvidéken

törzs jele	származás helye	törzs jele	származás helye
S1	Fáber-rét, gesztenyés	S27	Fáber-rét, szolg. lakás
S2	Fáber-rét, gesztenyés	S28	Fáber-rét, gesztenyés
S3	Ágfalvi gesztenyés	S29	Fáber-rét, gesztenyés
S4	Ágfalvi gesztenyés	S30	Sopron 113 B
S5	Gesztényés körút	S31	Sopron 83 B
S6	Sopron 83 B	S32	Sopron 85 C
S7	Sopron 85 D	S33	Sopron 85 C
S8	Sopron 88 A	S34	Sopron 85 D
S9	Sopron 85 C	S35	Sopron 85 D
S10	Sopron 85 C	S36	Sopron 207 D
S11	Sopron 113 C	S37	Sopron 210 A
S12	Sopron 143 A	S38	Harka 1 A
S13	Sopron 191 C	S39	Fáber-rét, gesztenyés
S14	Sopron 193 A	S40	Sopron 118 B
S15	Sopron 207 C	S41	Sopron 119 A
S16	Sopron 210 A	S42	Sopron 119 C
S17	Sopron 211 B	S43	NYME Botanikus kert
S18	Ágfalva 3 G	S44	Bánfalva, KTT
S19	Ágfalva 6 D	S45	Bánfalva
S20	Harka 3 B	S46	Gesztényés krt.
S21	Bánfalvi kolostorkert	S47	Gesztényés krt.
S22	Bánfalva	S48	Gesztényés krt.
S23	Ágfalvi gesztenyés	S49	Gesztényés krt.
S24	Fáber-rét, gesztenyés	S50	Gesztényés krt.
S25	Fertőszentmiklós	S51	Gesztényés krt.
S26	Fertőszentmiklós		

5. táblázat Az izolátumok származási helye

## 5.2. Virulencia-tesztek

Összesen öt gombatörzssel végeztem virulencia-tesztet szelídgesztenye-hajtásokon, közülük egy származott a természetben erősen mérsékelt növekedést mutató nekrozisból (S21), a másik hármat (S9, S18, S19) pedig a tenyészejellege (pigmenthiányos, viszonylag kevés piktinidiumot termelő) miatt vontam be a vizsgálatba (27. ábra). Az S1 virulens törzs pozitív kontrollként szerepelt.



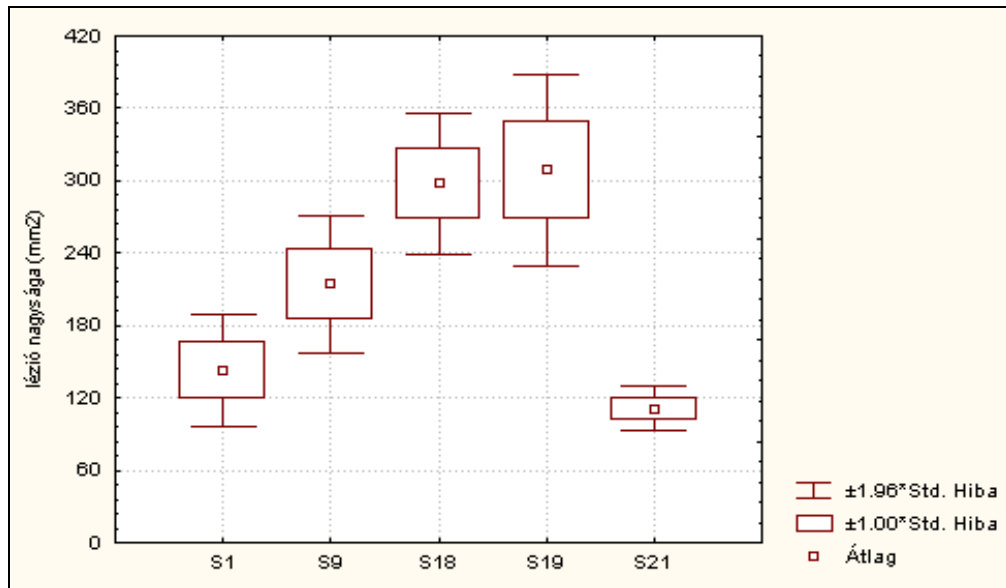
A



B

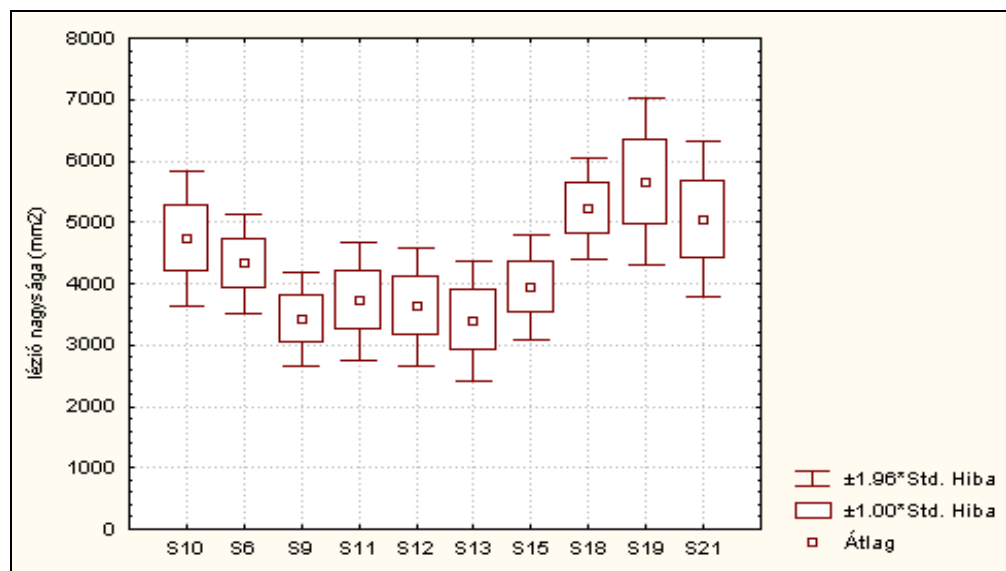
27. ábra Az S19 jelű törzs tenyésztete –A,  
és az S21 törzs okozta nekrosis -B (fotó: Vidóczi H.)

A szelídgesztenye hajtásokon okozott nekrosisokat mérve Wronski és munkatársai (1997) 3,5 cm<sup>2</sup>-ben jelölték meg azt a határt, amely felett virulensnek osztályozták az izolátumot. Eszerint, a konfidencia-intervallum figyelembe vételével az S1, S9 és S21 jelű törzsek mutatnak csökkent virulenciát. S1-et aktív rákosodásból izoláltam, tenyészjellege alapján is virulensnek tűnt – mint kontroll került a vizsgálatba -, mégis a második legkisebb léziót okozta. Az S19 jelű törzs, amely tenyészetben mérsékelten pigmentált volt, a gesztenye-hajtásokon a legnagyobb elváltozásokat okozta. A vizsgálat eredményeit mutatja a 28. ábra.



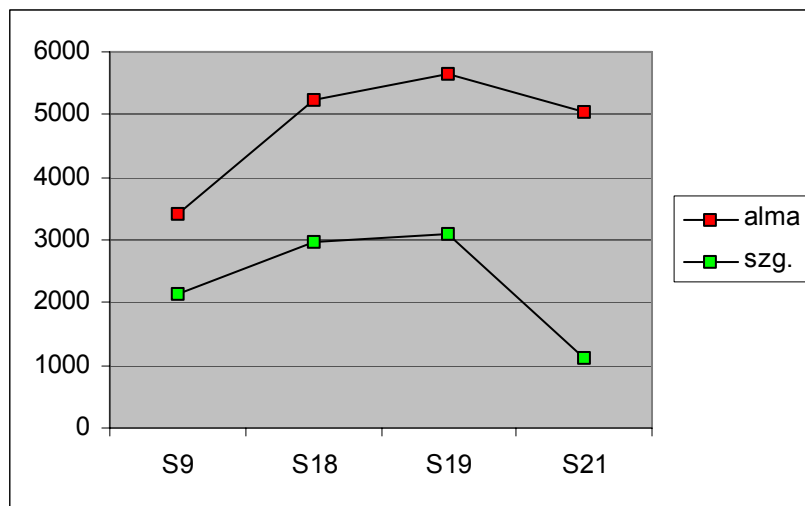
28. ábra Szelídesztenye-sarjakon végzett virulencia tesztek eredményei

Kilenc vélhetően hipovirulens törzssel végeztem virulencia tesztet alma gyümölcsökön. A tizedik, S10-es törzs mindhárom mérési sorozatban kontrollként szerepelt, így ehhez viszonyítottam a többi törzs okozta léziót. Megállapítottam, hogy ez a virulencia-teszt sem jellemezte pontosan a törzsek virulenciáját (29. ábra). Mint később, a kettősszálú RNS-ek kivonásakor kiderült, csak virulens törzsek szerepeltek ebben a vizsgálatban. Ennek ellenére jelentős különbségek adódtak.



29. ábra Alma gyümölcsökön végzett virulencia tesztek eredményei

Heiniger és munkatársai (1999) hasonló eredményre jutottak: nincs szoros korreláció a mesterséges fertőzések okozta léziók mérete és a kórokozó virulenciája között, ezzel a módszerrel nem lehet egyértelműen elkülöníteni a virulens és a hipovirulens törzseket.



30. ábra A virulencia-tesztek összehasonlítása

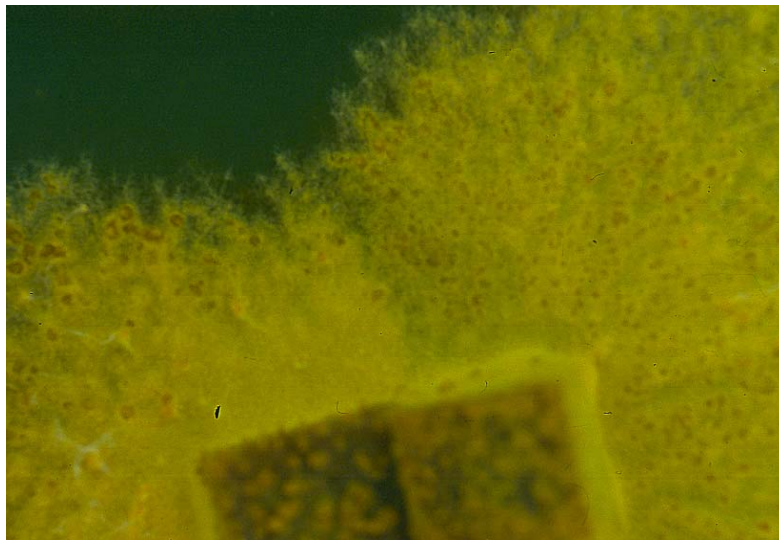
Négy gombatörzs mindkét vizsgálatban szerepelt, így lehetőség nyílt a két virulencia-teszt összehasonlítására (30. ábra). Elmondható, hogy a két eljárás hasonló eredményeket adott: a korrelációs együttható 0,33, ez gyenge kapcsolatot jelent a két vizsgálati sorozat között.

Összevetve a virulencia-tesztek eredményeit a kettőszálú RNS-ek kivonásával, nincs szoros korreláció a gesztenye-hajtásokon, vagy alma gyümölcsökön okozott elváltozások nagysága és a virulencia között. Kettőszálú RNS-t nem tartalmazó izolátumok is okozhatnak kisebb léziót, ill. fordítva. Saját tapasztalataim alapján a hipovirulenciára a legegyszerűbben és a legmegbízhatóbban alkalmazható teszt magának a konverciónak az elvégzése. Az S18 törzs például hiába sporulált gyengén, illetve volt pigmenthiányos a tenyészeté, ezek a morfológiai bélyegek sokkal határozottabban jelentkeztek, miután hazai hipovirulens törzssel konvertáltam.

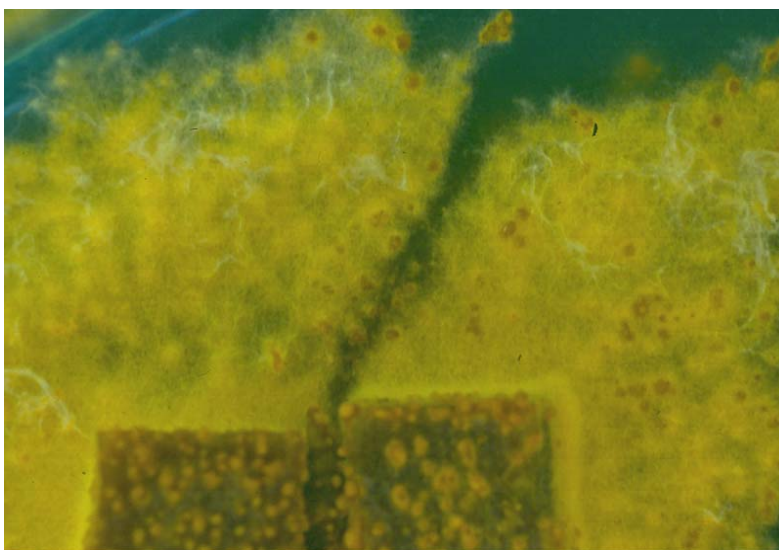


### 5.3. Kompatibilitási vizsgálatok, konverziók

Vegetatív kompatibilitás áll fenn a két gombatörzs között, ha hifa-anasztomózisok keletkeznek, tehát az érintkezési zónában nem történik hifa-elhalás illetve aktív piknídium-képzés. Kompatibilis kapcsolatot szemléltet a 31. ábra. Inkompatibilis a kapcsolat, ha a telepek érintkezési zónájában a hifák elhalnak, közöttük hifa-hidak nem alakulnak ki, viszont aktív piknídium-képzés mutatkozik (32. ábra).



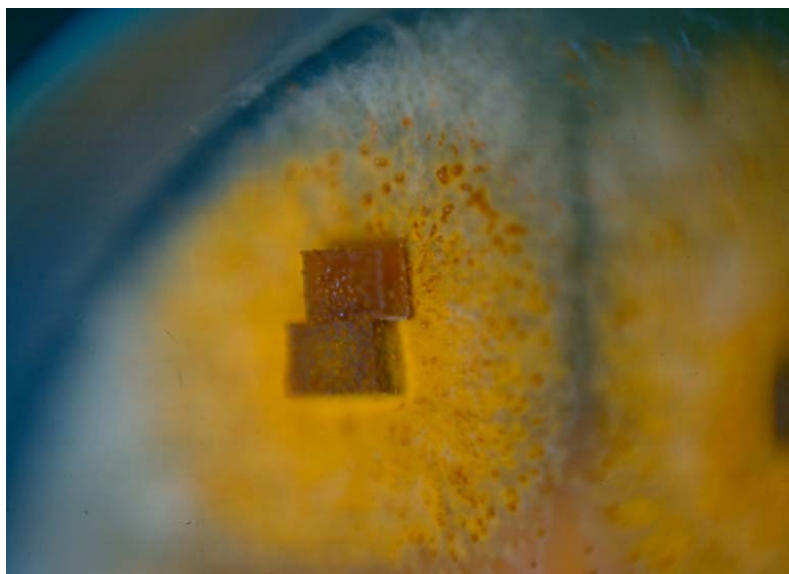
31. ábra Kompatibilis kapcsolat (fotó: Vidóczi H.)



32. ábra Inkompatibilis kapcsolat (fotó: Vidóczi H.)

A vegetatív kompatibilitási tesztek értékelése során nem tapasztaltam ún. híd-törzseket, amelyek több csoporttal is képesek lettek volna hifa-anasztomózisokat kialakítani. Minden egyes mintapárnál egyértelműen megállapítható volt a reláció.

A pontos értékeléshez sztereomikroszkópra is szükségem volt, leginkább a 33. ábrán is látható különleges esetekben.



33. ábra Inkompatibilis kapcsolat (fotó: Vidóczi H.)

Az első vizsgálatsorozat alapján hat különböző kompatibilitási típust különítettem el (34. ábra), ebből öt a Soproni-hegyvidékről, a hatodik (későbbiekben SVI ■) a fertőszentmiklósi telepített gesztenyéből származik. A hegyvidéken domináns vegetatív kompatibilitási típusba (SI □) tartozott az izolátumok 55 %-a. A második (SII ■), szintén elterjedt típusba 29 %, a harmadikba (SIII ■) 8 %, a negyedik és ötödik (SIV ■, SV ■) típusba 4-4 % került.


	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25	S26
S1		+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+
S2	+		-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+
S3	-	-		-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
S4	+	+	-		+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+
S5	+	+	-	+		+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+
S6	+	+	-	+	+		+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+
S7	+	+	-	+	+	+		-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+
S8	-	-	+	-	-	-	-		-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
S9	+	+	-	+	+	+	+	-		+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+
S10	+	+	-	+	+	+	+	-	+		-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+
S11	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-		-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
S12	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-		-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+
S13	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-		-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
S14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S15	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-		-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+
S16	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-		-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
S17	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-		-	-	-	-	-	+	+	-	+
S18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		+	-	-	-	-	-	-	-
S19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		+	-	-	-	-	-	-
S20	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-		+	-	-	-	-	-
S21	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+		-	-	-	-	-
S22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-
S23	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-		+	-	+
S24	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
S25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
S26	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-

34. ábra A vegetatív kompatibilitási tesztek eredményei

(„+” kompatibilis, „-” inkompatibilis kapcsolat)

Az SI-SVI kompatibilitási típusokból egy-egy törzset tartottam fenn teszterként, amelyekhez hasonlítottam a későbbiekben izolált gombatörzseket. Ezeknek a kompatibilitási vizsgálatoknak az eredményeit mutatja a 35. ábra. A kompatibilitási tesztek során mindössze egy újabb típust találtam (SVII  ).

Az SI-SVI kompatibilitási típusokból egy-egy törzset tartottam fenn teszterként, amelyekhez hasonlítottam a későbbiekben izolált gombatörzseket. Ezeknek a

kompatibilitási vizsgálatoknak az eredményeit mutatja a 35. ábra. A kompatibilitási tesztek során mindössze egy újabb típust találtam (SVII .

	S27	S28	S29	S30	S31	S32	S33	S34	S35	S36	S37	S38	S39	S40	S41	S42	S43	S44	S45	S46	S47	S48	S49	S50	S51
SI	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
SII	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SIII	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SIV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
SVI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

35. ábra A vegetatív kompatibilitási tesztek eredményei – későbbi izolátumok

A fertőszentmiklósi törzseket leszámítva tehát 49 izolátum összehasonlító vizsgálatát végeztem el. A vegetatív kompatibilitási típusok diverzitásának, és ez által a kórokozó populáció-struktúrájának kifejezésére a vonatkozó szakirodalom a Shannon-féle diverzitási indexet használja (Robin és Heiniger 2001, Radócz 2001). Ennek meghatározásához szükségünk van az egyes típusok előfordulási valószínűségére. Első lépésben a fertőzött területet határoztam meg kompatibilitási típusonként:

$$h_i = \sum_{a=1}^n g \cdot h \cdot f$$

ahol  $g$ = a gesztenye elegyaránya az erdőrészletben/100

$f$ = a fák fertőzöttsége/100

$h$ = a részlet területe (ha)

$a$ = az összes felmért erdőrészlet 1-től  $n$ -ig

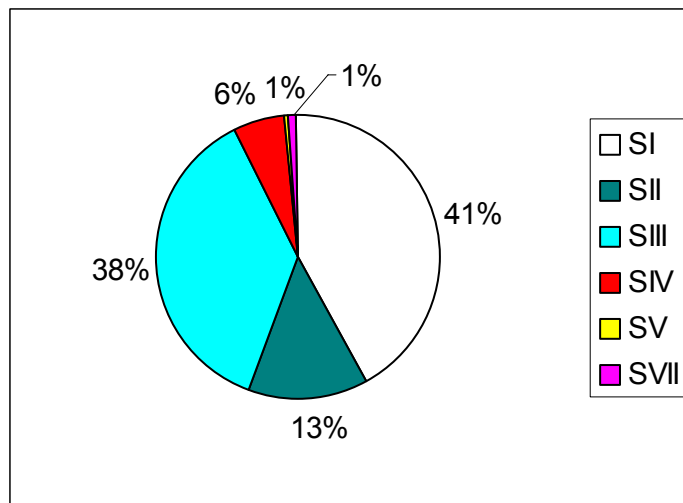
$i$ = kompatibilitási típusok.

S ezután a típusok előfordulási valószínűségét:

$$p_i = \frac{h_i}{\sum_{i=1}^n h_i}$$

veg. komp. típus (i)	izolátumok száma (N)	h <sub>i</sub> fertőzött terület (ha)	előfordulási valószínűség (p)
SI	29	0,57	0,419
SII	10	0,18	0,132
SIII	2	0,51	0,375
SIV	2	0,08	0,059
SV	5	0,01	0,007
SVII	1	0,01	0,007

6. táblázat Az előfordulási valószínűség meghatározása



36. ábra A vegetatív kompatibilitási típusok előfordulási valószínűsége a Soproni-hegyvidéken

Az adatokból kalkulált Shannon-féle diverzitás-index:

$$H' = \sum_{i=1}^n p_i \cdot \ln p_i$$

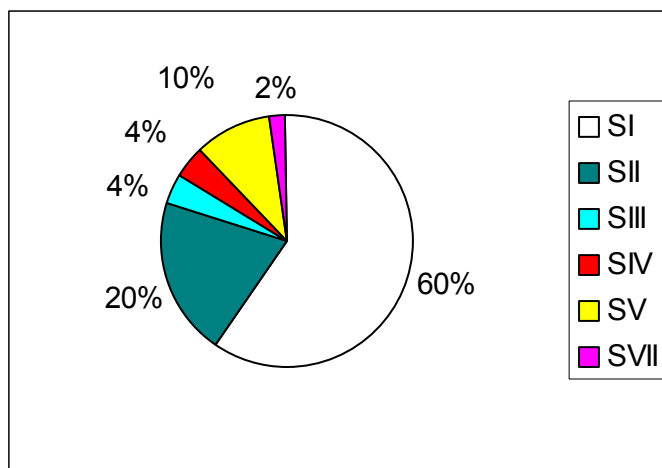
$$H' = 1,24$$

Az egyes szubpopulációk diverzitása között jelentős eltérések vannak. A városhoz közeli Károly-magaslat környékén 0,68 a diverzitás- index, az előforduló típusok a domináns SI, és az SII. A Sánc-hegyen (a Fáber-rét és Bánfalva közt fekvő erdőben) 0,38 az index értéke, SI típus dominál, mellette előfordul az SII és SV típus. Legalacsonyabb a diverzítás-index az Ágfalvi-erdőben, értéke 0,33, itt az SIII típus dominál, mellette SII és

SIV típusok fordulnak elő. A Liget-erdőben három (SI, SII és SIV) típus közel azonos valószínűséggel fordul elő, itt a legmagasabb a diverzitás-index, értéke 1,07.

Radócz (2001) - a telepített gesztenyéseket vizsgálva - Ágfalván kettő, Sopronban, Bánfalván és Brennbergbányán egy-egy vegetatív kompatibilitási típusról számolt be. A bánfalvi, a brennbergbányai és az egyik soproni típus azonos, tehát a termőkörzetben a kórokozónak három különböző vegetatív kompatibilitási típusát különítette el. Ágfalván a gesztenyésben 0,19-es diverzitási indexet állapított meg. A később ismertetett kezelések alapján számítva ez az érték 0,29-re növekedett. Az egész hegyvidékre és a kertvárosra kiterjedő vizsgálataim során talált hat típus, és a magas diverzitási-index azt mutatja, hogy egy a hipovirulenciára alapozott biológiai védekezési program sikeréhez a kórokozó populáció-struktúrájának minél teljesebb körű felmérése szükséges.

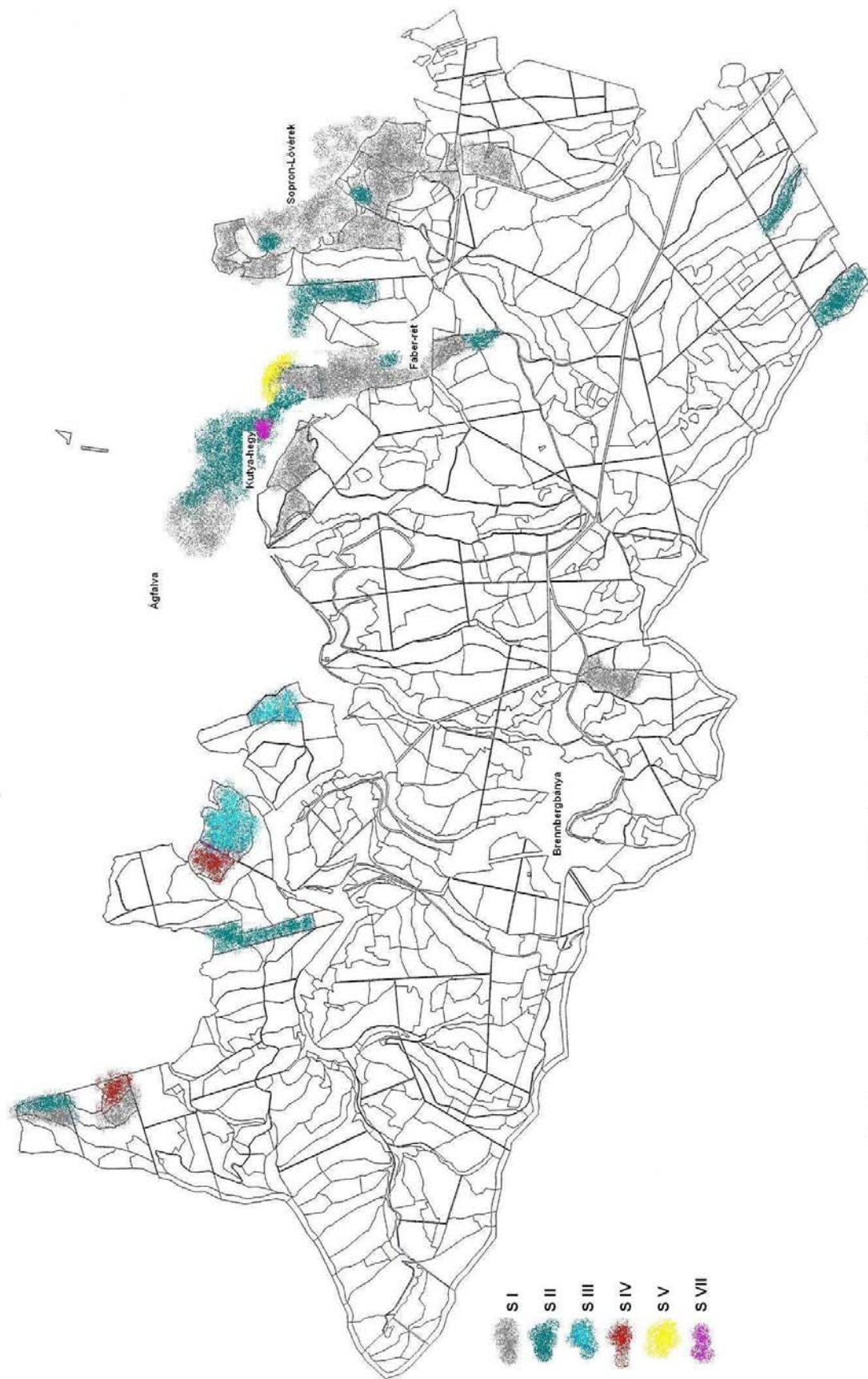
Itt ki kell térnem a mintagyűjtési módszerekre, amelyek ennél a kórokozónál általában nem szisztematikusak, mivel célzottan a hipovirulens nektrózisokra kell, hogy irányuljanak. Ennek következtében azonos nagyságú területről eltérő számú kéregminta származik. Ezek a véletlenszerű mintavételek viszont nem reprezentálják a kórokozó egyes vegetatív kompatibilitási típusainak elterjedését. Saját eredményeim esetén, ha nem veszem figyelembe a fertőzöttség mértékét és kiterjedését, az alábbi előfordulási valószínűségeket kapom. (37. ábra). A két kördiagramot összehasonlítva feltűnően nagyok az eltérések. A diverzitási indexek között viszont alig van eltérés, utóbbi esetben  $H' = 1,21$ .



37. ábra Előfordulási valószínűsége az izolátumok száma alapján

A típusok elterjedését a 38. ábra mutatja. Eszerint a kórokozónak a Soproni-hegyvidékről eddig izolált törzsei hat különböző vegetatív kompatibilitási típusba tartoznak. Ez - a terület méreteit tekintve - igen magas szám, és a jövőben, de néhány ültetvényben, illetve a város egyes részein már ma is megnehezíti a biológiai védekezést.





38. ábra A vegetatív kompatibilitási típusok elterjedése a Soproni-hegyvidéken

Míg az előző kompatibilitási tesztek egyértelmű eredményeket adtak, addig ebben a vizsgálatban a kórokozó soproni törzsei általában egyszerre több EU-teszterrel is kompatibilisek voltak (39. ábra).

	SI	SII	SIII	SIV	SV	SVII
EU1	-	-	+	-	+	+
EU6	-	+	-	-	-	-
EU9	-	+	-	-	-	-
EU12	-	-	-	+	-	-
EU13	+	-	-	-	-	-
EU16	-	-	-	-	+	-
EU17	-	-	+	-	-	-
EU22	-	-	-	-	+	-
EU23	-	+	-	-	+	-
EU25	-	-	-	-	-	+
EU28	-	-	-	-	-	+

39. ábra Az EU-teszter törzsekkel való kompatibilitási viszonyok

Az EU-tesztterekkel való kompatibilitási viszonyok elemzésével következtetni lehet az egyes területeken a fertőzések eredetére, az epidémia kialakulására.

A 49 izolátum közül 29 tartozik az SI vegetatív kompatibilitási típusba. Ez a típus a domináns a hegyvidéken: jellemzően a Sörház-dombon, a Lővérekben, a várasi erdőkben, a Fáber-réten. Szórványosan előfordul Brennbergbánya mellett és a hegyvidék északi, elzárt gesztenyésben, az ún. Liget-erdőben. Domináns még a hegység észak-keleti lankáin: az Újhegyen és a Kutya-hegy keleti oldalán. Ágfalvától Sopron-Bánfalváig. Valószínűleg ez, a leginkább elterjedt törzs jelent meg először Sopron környékén. Az SI a hegyvidéken és a Lővérekben egyaránt domináns, és az EU-13 teszterrel kompatibilis típus Ausztriában széleskörűen elterjedt, míg nálunk a soproni előforduláson kívül csak a Kőszegi-hegységben és a Mecsekben fordul elő. A Kőszegi-hegységben, Cákon természetes hipovirulens alakja is létezik. A hipovirulencia természetes megjelenése és a kórokozó első észlelése egy területen szoros korrelációt mutat (Robin, Heiniger 2001). Mivel ez idáig sem a Soproni-hegységben, sem a közeli Rozália-hegységben nem találtak hipovirulens

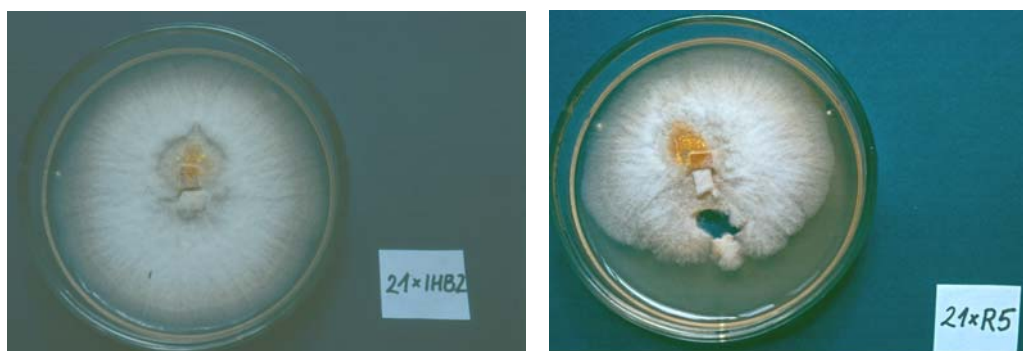


törzset, feltételezhető, hogy a járvány első hulláma a Kőszegi-hegységből érkezett Sopron környékére, majd terjedt tovább keletre Fertőszentmiklós felé, ahol szintén megtalálható ez a típus. Összehasonlítva szlovák kutatók EU-kompatibilitási vizsgálataival jól látható, hogy az epidémia innen terjeszkedett a Kárpát-medence legészakibb, elszigetelt szelídgesztenye-populációi felé (Juhászová, Bernadovicová 2001/A).

Az SI törzs átalakítása egy Franciaországból származó hipovirulens törzs felhasználásával történt. Az 1996 tavaszától folyó ágfalvi szabadföldi oltási kísérleteknél ezt a konvertált törzset használtuk.

A térképen SII-vel jelölt típus előfordulási valószínűsége az erdőterületeken 13 %. Domináns a Kutya-hegyen, ez a szubpopuláció eléri az Ágfalvi-gesztenyést. Elterjedésére a szigetszerűség a jellemző, általában beékelődik az SI típus elterjedési területébe, így szórványosan (egy-egy izolátummal) megtalálható a Klastrom-hegyen, a Fáber-réten, a Héttüskfánál, a hegység távoli területein (Loos-oldal, Liget-erdő), és az Egyetem Botanikus kertjében. A hegyvidék déli lábánál fekvő, Harka községbe tartozó erdőterületeken kizárólagosan ez a típus károsít.

Az SII törzs az EU-6, EU-9 és EU-23 típusokkal volt kompatibilis. Ez alapján rokonságot mutat néhány délnyugat-dunántúli megyéből származó izolátummal: Sand, Rezi, Nemeshetés, Zengővárkony. Mivel a soproni szelídgesztenye-populáció ezektől a területektől távol fekszik, valószínűleg antropogén hatás (szaporítóanyag) révén került ez a kompatibilitási típus a területre. Természetes hipovirulens törzset a kórokozó helyi populációjában nem találtam, de konvertálását Zala és Somogy megyei törzsekkel sikerült elvégeznem (40. ábra).



40. ábra SII sikeres konverziója Ihb2 és R5 törzsekkel (fotó: Vidóczi H.)

A Kutya-hegyen, ahol a város legtöbb kultúr-gesztenyése található ez a kompatibilitási típus dominál. Általában erről a területről származtak a gesztenye-termelők által gyűjtött izolátumok, amelyek döntő többsége az SII típusba tartozott. Az SII típus elterjedése és előfordulási valószínűsége - az egész termőtájat, és nem csak az erdőterületet tekintve - tehát lényegesen több, mint 13 %. Fontos megjegyezni, hogy az ágfalvi gesztenyében – a kísérleti területen is - már mind a két, nagy elterjedési területtel rendelkező típusba tartozó törzset is izoláltam.

A lokális elterjedésű SIII típus mindössze két izolátummal szerepelt, de mivel károsítása nagy, így előfordulási valószínűsége is. Ágfalvától délnyugatra, az Alsó- és Felső-Tödl hegyoldalakon okozott 30 %-ot meghaladó fertőzést, de feltételezhető, hogy a későbbiekben újabb erdőrészekben is megtalálható lesz. Az SIII törzs kompatibilitást mutatott az Ausztriában domináns EU-17 törzssel, és a Zala és Vas megyében előforduló EU-1 törzssel. Mivel ez a törzs a nyugat-európai *C. parasitica*-populációra jellemző, és Ausztriában is széleskörűen elterjedt, a Soproni-hegyvidéken pedig csak lokálisan, a határhoz közel, ezért valószínű, hogy a Rozália-hegységéből származik. A tesztek első értékelésekor – egy hetes párban tenyésztés – az SIII kompatibilisnek bizonyult az EU-5 gombatörzssel is, de később sztrómák keletkeztek telepeik határvonalán. Hazánkban az EU-5 törzset a Zala megyei Sandon írták le; az SIII konverziója végül is sikeresnek bizonyult - egy Sandról származó hipovirulens törzssel alakítottam át (41. ábra). Ez a konverzió azt bizonyítja, hogy a vegetatív kompatibilitási típusok nem határolódnak el élesen egymástól, és a teszt negatív eredménye ellenére is átadható a hipovirulencia.



41. ábra Az SIII típusba tartozó törzs sikeres konverziója (fotó: Vidóczi H.)

Az SIV típus szintén kis elterjedésű: egyik izolátum a Borsó-hegyről származik, másik a Liget-erdőből. Kompatibilitását tekintve az EU-12 teszterrel mutat rokonságot, amely gombatorzs széleskörűen elterjedt nemcsak hazánk legfontosabb szelídgesztenye-termőterületein, de domináns a jugoszláv utódállamokban, Görögországban, Dél-Olaszországban, és kizárólagos az epidémia frontországának számító Romániában és Ukrajnában. Feltételezhető, hogy ez a törzs a mediterráneum keleti országaiból jutott hozzánk, és terjesztette a betegséget a szelídgesztenye legtávolabbi, izolált populációi felé.

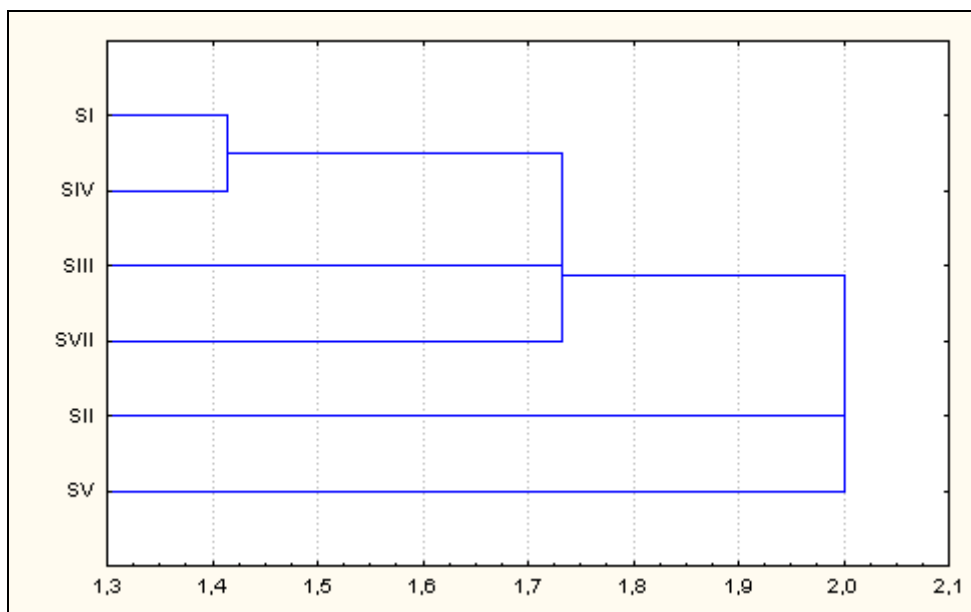
Az SV típus kis területen található meg, a bánfalvi Gesztenyés körút melletti gyümölcsösből izoláltam. Ebben a városszéli, frekventált gesztenyében több kompatibilitási típus fordul elő, a terület valószínűleg az elsők között fertőződött meg a *C. parasitica*-val. Bár a hegyvidéken nem találtam meg a kórokozó ivaros alakját, a gomba több évtizedes jelenléte miatt feltételezhetően megkezdődtek az ivaros szaporodási folyamatok, s így a vegetatív kompatibilitást szabályozó gének rekombinációjával a populáció szegregálódott, új típusok jelentek meg, növelve a populáció diverzitását és ezzel megnehezítve a biológiai védekezést. Az SV törzs kompatibilis az EU-1, EU-16, EU-22, és EU-23 teszter törzsekkel.

Vélhetően hasonló az SVII jelű törzs eredete is, amely egy izolátummal a Kutya-hegyről származik. Ezen a területen is erős a fertőzés, sok az elhanyagolt, gazdátlan gesztenyés, a betegség akadályok nélkül terjeszkedhetett. Ez a törzs kompatibilisnek bizonyult az EU-1, EU-25 és EU-28 teszter törzsekkel.

Ez utóbbi három törzs (SIV, SV, SVII) átalakítása sem az általam gyűjtött, sem a hozzáférhető európai hipovirulens törzsekkel nem járt sikerrel. Emiatt korlátozottak a gyógyítási lehetőségek. A későbbiekben fontos teendő ezzel a három törzssel kompatibilis hipovirulens törzsek felkutatása.

Mivel a EU-teszter törzsekkel végzett vizsgálatok során a relációk átmeneti típusokat mutattak, így lehetővé vált a rokonsági viszonyok cluster-analízise. Az alábbi dendrogram (42. ábra) a kórokozó soproni törzseinek rokonsági viszonyait ábrázolja. Eszerint a három domináns törzs jól elkülönül egymástól, a szexuális rekombináció eredményeként fellépő SV törzs az SII jelűvel, az SVII az SIII jelűvel mutat rokonságot. Az SIV törzs szoros rokonságban van az SI jelű törzssel. Tehát elképzelhető, hogy már ez a törzs is az ivaros szaporodási folyamatok eredménye: igaz, hogy a fent említettek szerint

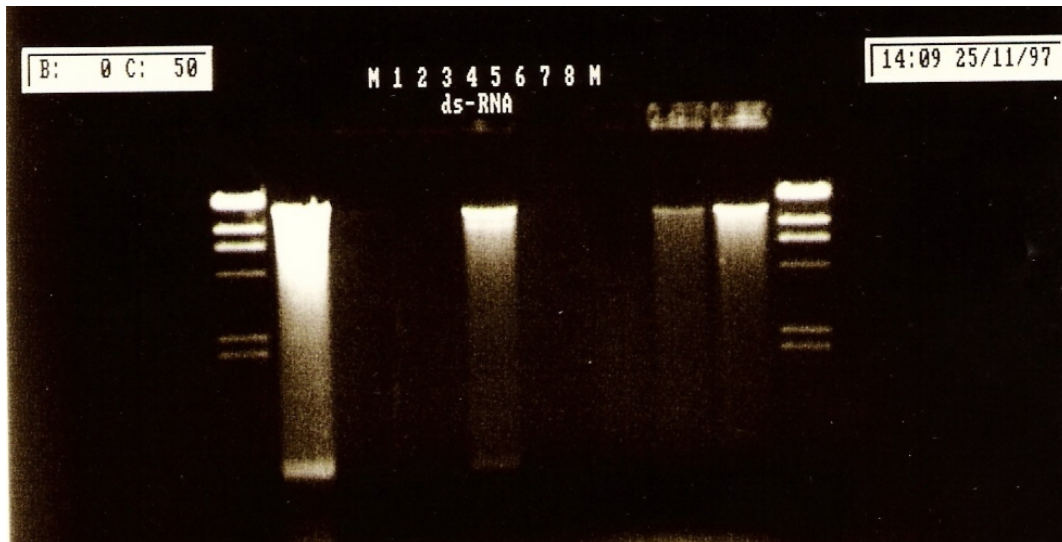
sokfelé elterjedt, de hazánkban leginkább azokra a területekre jellemző (Iharosberény, Zengővárkony, Rezi), ahol a betegség évtizedek óta jelen van, és a populáció szegregálódott. Ehhez hasonlóan Sopronban is létrejöhetett akár három endogén vegetatív kompatibilitási típus.



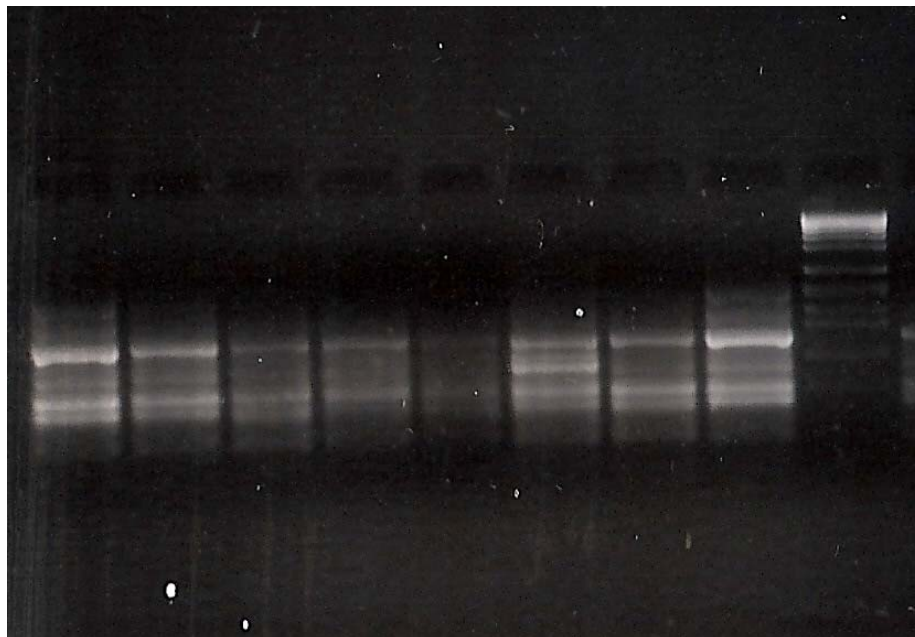
42. ábra Az EU kompatibilitási tesztek alapján szerkesztett dendrogram (*single linkage*)

A biológiai védekezéshez a helyi virulens törzseket konvertálnom kellett hipovirulens törzsek segítségével. A konverzió során – amennyiben fennáll a kompatibilitás - a kettősszálú RNS a hifa-anasztomózisokon keresztül a hipovirulens törzs citoplazmájából átkerül a virulens törzsbe.

A konverziót (a jelenlévő kettősszálú RNS-t) molekuláris biológiai vizsgálatokkal igazoltam. Az SII és SIII vegetatív kompatibilitási típus egy-egy konvertált törzsének citoplazmájában a jelenlévő dsRNS-t igazolja a 43. ábra. Mindhárom (S21xR5, S21xIhb2, S18xSa3) mintánál kivehető annak a kb. 12,7 kbp nagyságú molekulának a jelenléte, amely szoros korrelációt mutat a hipovirulencia jelenségével. A C egy kontrollként használt, hipovirulens, Zala megyei izolátumot jelöl. A patogenitási teszt és a tenyésztési jelek alapján az analízisbe vont többi gombatörzs nem váltotta be a hozzá fűzött reményeket: a Soproni-hegyvidéken nem találtam hipovirulens *C. parasitica* izolátumot.



43. ábra A kettősálú RNS-ek kimutatása a konvertált törzsekben (a minták 1-8-ig: S21xR5, S23, S11, S18xSa3, S21, S18, S21xIhb2, An-kontroll, M: molekulatömeg-marker) (fotó: Vidóczy H.)



44. ábra A RAPD amplifikáció G13 primerrel alkotott termékei (fotó: Vidóczy H.)

Az eredeti és az átalakított gombatörzsek genetikai azonosságának igazolására RAPD analízist használtam. Az eredeti és a konvertált törzsek esetén a keletkezett fragmentumok páronként azonosak, tehát az alkalmazott biológiai védekezéssel nem fogunk bevinni új, a vegetatív kompatibilitást szabályozó alléleket a területre (44. ábra).



#### 5.4. A terepi biológiai védekezés eredményei

Az ágfalvi kísérleti területen 1996 tavaszától 2000-ig folytattam elsősorban gyógyító jellegű védekezési programot. Ez idő alatt 37 beteg szelídgesztenyefát kezeltem az előző fejezetben leírt módszer szerint, fánként egy-négy alkalommal. Egy-egy fán átlagosan 1,4-szer oltottam körül a virulens rákosodásokat. Mivel a területen az előzetes felmérés szerint az SI kompatibilitási típus fordult elő, a kezelésekhöz az A3xBf francia törzssel konvertált helyi gombatörzset használtam, csökkentve az ivaros szaporodás megindulásával járó populáció-szegregálódást. A kezelt nekrozisok általában már egy év múlva a kezdődő gyógyulás jeleit mutatták: az oltási pontok helyén a szövet megduzzadt, és megindult a kalluszosodás (45. ábra). A kéreg felületén is jól kivehetők lettek a hipovirulens gombatörzs okozta elváltozások: hosszanti majd keresztirányban felrepedezett, nyomásra nem süppedt be, és nem vált le. Sztromatikus piknídiumok általában nem képződtek rajta.



45. ábra Kezdődő gyógyulás, jól látszik az erőteljes kalluszképződés, miközben az oldalág elpusztult (fotó: Vidóczi H.)

Megfigyeléseim szerint a virulens micélium terjedése hosszanti irányban gyorsabb, mint oldalirányban. Több kezelésnél észrevettem, hogy a virulens hifák áttörtek a felső és alsó oltási pontokon, míg kétoldalt ez ritkán fordult elő. (Ha igen, ott más probléma is felmerült.) Ezért a későbbi kezeléseket már úgy végeztem, hogy a nekrosis alsó és felső részén nagyobb biztonsági távolságot hagytam, így a hipovirulencia az oltási pontok által alkotott vonal teljes hosszán átadódott, bezárva ezzel a terjeszkedő virulens rákot.

A betegség gyakran ágvillaiban támadta meg a fát, ugyanis az ott megmaradó nedvesség kedvezett a spórák megtelepedésének. Ezeknek az ágvillás nekrosisoknak a kezelése csak alapos, a nekrosis teljes területét érintő oltással volt eredményes. Ugyancsak gondot jelentett a tónél, a vastag kéreg alatt fejlődő nekrosisok határainak megállapítása. Gyakran szinte az egész területet érintette a kezelés. Végül ezek a bonyolult kezelések is eredményesek lettek, megindult a kalluszosodás és a seb körülzáródott (46. ábra).



46. ábra Bonyolult kivitelezésű oltások is gyógyulást eredményeztek

Néhány esetben az oltások sikertelensége miatt kéregmintát vettem, amelyből izoláltam a kórokozót és meghatároztam a kompatibilitási típust. Kiderült, hogy az SII típus is jelen van a mintaterületen. Ezeket a nekrosisokat az S21xR5 hipovirulens törzsszel oltottam körbe. Előfordult, hogy addigra a nekrosis csaknem körülölelte a törzset, de még

ekkor is volt remény a szövetek regenerálódására. A következő ábrán jól láthatók a kambium pusztulásával járó, nagy kiterjedésű virulens nektrózisok, és az erőteljes kalluszosodás, ahogy a fa igyekszik leküzdeni a betegséget. Ezek a különlegesen szép gyógyulások a szelídgesztenye kiváló visszaszerző-képességét is bizonyítják (47. ábra).



47. ábra Nagy kiterjedésű rákosodás gyógyulása  
(fotó: Vidóczy H.)

Az SII típus csak gócszerűen jelentkezett a mintarületen, a 4. és 5. fa nektrózaiban mutattam ki. A későbbiekben a közelben álló fákon a kompatibilitást nem vizsgáltam, hanem kombinált kezelést alkalmaztam: a két konvertált hipovirulens törzs (A3xBf, S21xR5) tenyészetét felváltva helyeztem a furatokba. Ilyen kezelést kapott a 16. fa (48. ábra). Az alkalmazott biológiai védekezésnél elsődleges szempont a helyi hipovirulens, ezek hiányában a kórokozó helyi populációjának konvertált és azonosított törzseire alapozott kezelés. Ektogén hipovirulens törzsekkel végzett kezeléseket ivaros szaporodási folyamatokon keresztül újabb vegetatív kompatibilitási típusok megjelenéséhez vezetnek. Amennyiben mindkét kompatibilitási típus jelen van (SI és SII), ezzel a kombinált kezeléssel sem viszünk be újabb, a vegetatív kompatibilitást szabályozó alléleket területre.





48. ábra Eredményes gyógyulás négy évvel a kombinált kezelés után (fotó: Vidóczy H.)

Maga a gyógyulás egy aktív küzdelemmel járó folyamat, amely a szelídgesztenye, a virulens és a hipovirulens kórokozó részvételével zajlik. Ezért minden eszközzel arra kell törekednünk, hogy a virulens kórokozó terjeszkedését gátoljuk, a hipovirulenciát pedig elterjesszük. Egy nekrosis esetén a fertőzött, sztomatikus piknídiumokkal teli kéregrész eltávolításával jelentősen csökkenthetjük a felülfertőzések esélyét. Emellett a mechanikai védekezéshez hasonlóan gátoljuk az újabb virulens nekrosisok megjelenését.

Mivel a hipovirulens kórokozó nem okozza a szövetek pusztulását, preventív jelleggel is biztonságosan alkalmazhatjuk. Több súlyosan beteg fát is kezeltem, amelynél féltő volt, hogy a számos rákosodás egyike körülveszi a törzset, és ez a víz- és tápanyagszállítást blokkolásával a fa azonnali pusztulásához vezet. Különösen a vékonyabb törzsű fák esetében fordulhat ez elő. Több sikeres gyógyulás azt bizonyítja, hogy a törzs kerületének akár egyötöd vagy annál kisebb része is biztosítja a fa fennmaradásához szükséges vízszállítást. Ebből kiindulva néhány fánál a törzset és a főágakat teljes hosszában végigoltottam, kialakítva ezzel egy biztonsági zónát. A hipovirulens inokulum megtelepedése ebben a sávban megakadályozta a patogén terjeszkedését és a fa pusztulását (49. ábra). Ezzel a módszerrel kezeltem újra az 1. fát, három évvel az első hagyományos kezelés (csak a már meglévő nekrosisok körbeoltása)

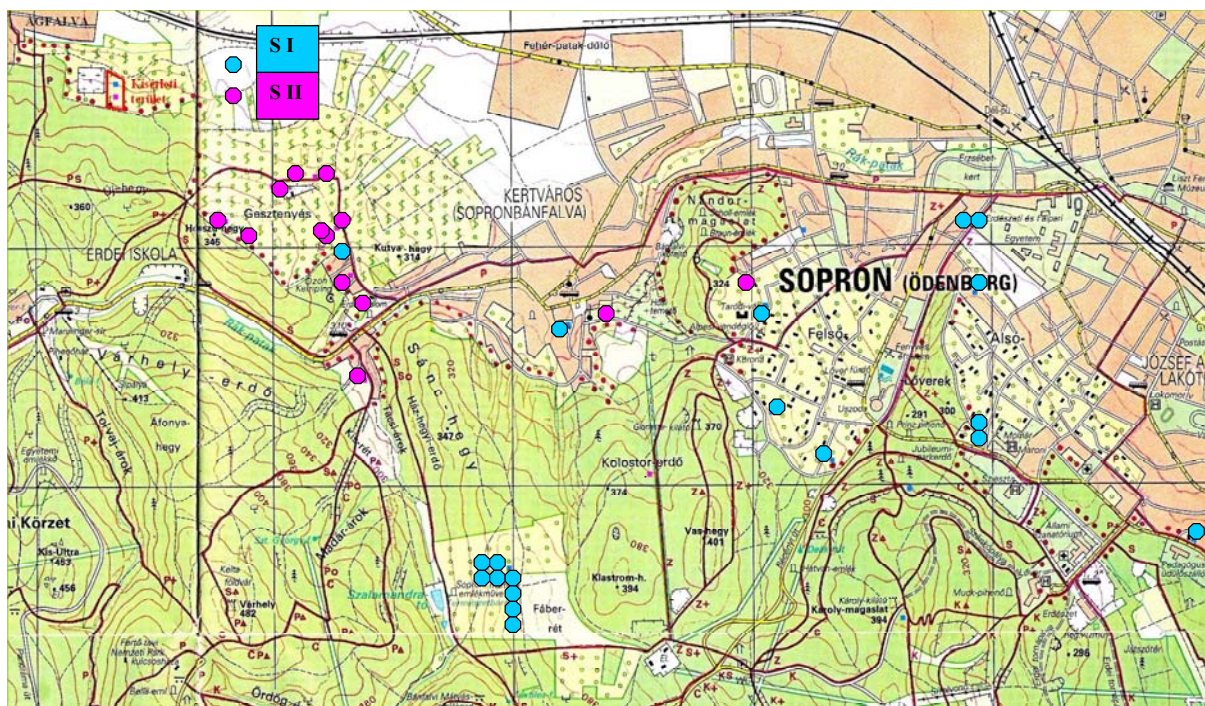
után, amely önmagában nem hozta volna meg a gyógyulást, és a fa minden bizonnyal elpusztult volna (49. ábra). Ilyen hosszanti törzs-kezelést alkalmaztam több idős, nagyméretű fánál a Lővérekben és a Kutya-hegyen; szóbeli közlések alapján ezek a fák életben maradtak, megkezdődött a gyógyulásuk.



55. ábra Egy törzs hosszanti irányú oltása és a súlyosan fertőzött 1. számú fa öt évvel az utolsó kezelés után (fotó: Vidóczi H.)

Az 50 ábrán láthatók azok a szabadföldi kezeléseket, amelyeket főként a gesztenyetermesztéssel foglalkozó gazdák kérésére végeztem, elsősorban gyógyító jelleggel a város környéki gesztenyésekben, illetve a Lővérekben. A kezeléseket minden esetben mintavétel, kompatibilitási vizsgálat előzte meg. Jól látható, hogy a két domináns vegetatív kompatibilitási típus (SI és SII) áréája átfedi egymást, megnehezítve ezzel az alkalmazott biológiai védekezést. Ezen a térképen tüntettem fel - Ágfalva határában - a kísérleti terület helyét. Az 1. melléklet az elvégzett kezeléseket, mechanikai tisztításokat, az oltások eredményeit, a 2. melléklet az Ágfalvi kísérleti terület vázlatos térképét tartalmazza.

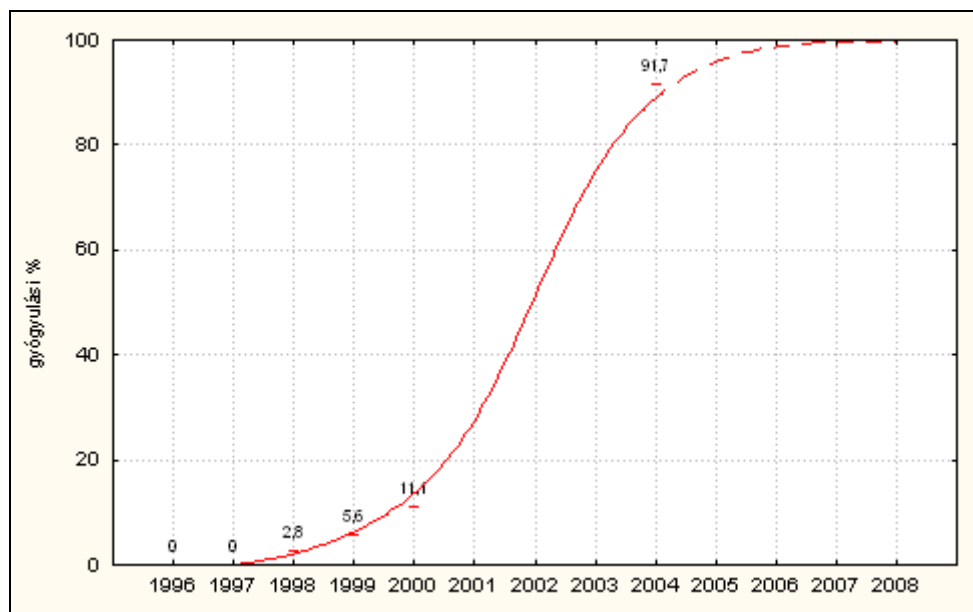




50. ábra Hipovirulens törzsekkel végzett kezelések a városban és környékén

A kísérleti területen gyógyultnak minősítettem egy fát, ha a kezelt nektrózisok teljes kerületükön erősen kalluszosodtak, esetlegesen spontán hipovirulens nektrózisok keletkeztek az ágakon, újabb virulens nektrózis viszont nem jelent meg (a koronában egy-két vékony gally elpusztulása megengedett).

Az 1996-tól 2000-ig tartó kezelések eredményeként nyolc év alatt a szelídgesztenyefák több mint 90 %-a meggyógyult. Az eredményeket az 51. ábra szemlélteti. Jól látható, hogy a fák gyógyulása hosszú, évekig tartó folyamat. Az első gyógyulások két év elteltével jelentkeztek, számuk eleinte lassan növekedett. 2001-ben, öt évvel az első kezelése után vált intenzívvé a gyógyulási folyamat, és nyolc év után közeledik az állomány a teljes gyógyulás felé. Ez idő alatt a hipovirulencia terjedése általánossá vált: a legtöbb fán (nemcsak a kezeltéken) spontán hipovirulens rákok alakultak ki, és a szomszédos erdő jellegű szelídgesztenyésre is átterjedt a gyógyulási folyamat.



51. ábra A gyógyult fák aránya az ágfalvi kísérleti területen

A hipovirulencia természetes terjedésével párhuzamosan újabb vegetatív kompatibilitási típusok jelennek majd meg, egyrészt a kórokozó természetes terjedésének hatására a szomszédos kiemelt jelentőségű termőtájakból (Kőszegi-hg., Rozália-hg. ), ahol a *C. parasitica* más típusba tartozó törzsei is károsítanak. Emellett a kórokozó helyi populációján belül idővel egyre inkább általánossá válnak az ivaros folyamatok, és ennek következtében - a vegetatív kompatibilitást szabályozó gének rekombinálódásával - új, endogén vegetatív kompatibilitási típusok megjelenése várható. Végül meg kell említeni az esetleges mutagén hatások miatt bekövetkező diverzitás-növekedést is. A biológiai védekezés hatékony alkalmazása tehát a *C. parasitica* populáció-struktúrájának naprakész ismeretében rejlik. Saját tapasztalataim szerint egy kezelt gesztenyésben elegendő a sikertelennek tűnő oltások vizsgálatával az újonnan fellépő törzs azonosítása, kompatibilitásának meghatározása, hozzá megfelelő hipovirulens törzs felkutatása, majd a helyi virulens törzs konvertálása és genetikai azonosságának igazolása.

A sikeres védekezési módszert tekintve felmerül annak alkalmazási lehetősége a Soproni-hegység szelídgesztenyével elegyes erdeiben. Mesterséges fertőzésekkel sikeresen terjesztették a hipovirulens törzseket többek között Svájcban, Olaszországban, Franciaországban. Ezek a kezelt állományok rövid vágásfordulójú, többször sarjzatatott, gazdaságilag kevésbé értékes szelídgesztenye-állományok voltak. Az Egyesült Államokban is végeztek mesterséges fertőzéseket az epidémia után fennmaradt elegyes erdőkben, amelyekben a sarj eredetű amerikai szelídgesztenye szórványosan, a második

koronaszintet alkotta. Az amerikai kísérletekben - bár tartósan megtelepedtek a kijuttatott hipovirulens gombatörzsek -, terjedésük igen lassú volt, egyrészt a kórokozó magas diverzitása, másrészt a gazdanövény kis elegyaránya miatt. Az európai alkalmazások sikeresek voltak, néhány hipovirulens törzs kombinált kijuttatásával megoldották a *C. parasitica* populáción belüli, kis számú vegetatív kompatibilitás típus okozta problémákat. A kezelt nekrózisok 50 %-a három, 70 %-a öt év elteltével meggyógyult. Egy év alatt a hipovirulencia természetes terjedése 2 m volt (Roane és munkatársai 1986).

Ez a terjedés nagyjából megfelel az általam tapasztaltaknak: az ágfalvi kísérleti területen évente 1,9 m-t terjedt a hipovirulencia. Ez öt év alatt 283 m<sup>2</sup>-t, tíz év alatt 1133 m<sup>2</sup>-t jelent. Tehát hektáronként tíz mesterséges fertőzéssel tíz év alatt, negyven fertőzéssel öt év alatt lehet elterjeszteni az adott hipovirulens törzset egy területen.

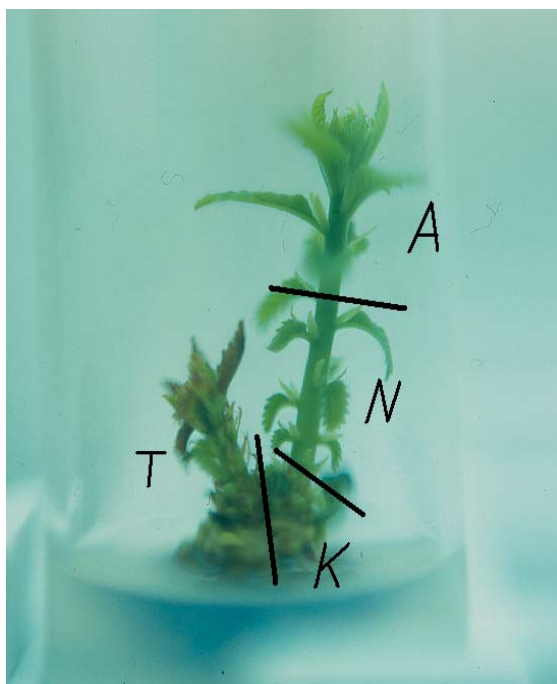
A Soproni-hegyvidéken a szelídgesztenye általában a kocsánytalan tölgygel alkot elegyes állományokat. A *C. parasitica*-t hazánkban széleskörűen megtalálták a kocsánytalan tölgyeken (Győr-Moson-Sopron, Vas, Zala, Somogy, Baranya megyében), amely azokon nekrózisokat, esetenként pusztulást idézett elő. Pallagi (2003) a kórokozót egyetlen elpusztult kocsánytalan tölgyön találta meg a Soproni-hegységben. Magam is izoláltam a Soproni-hegységben virulens törzset kocsánytalan tölgyről.

Tarcali és Radócz (2003) egy erősen fertőzött, pécsbányatelepi elegyes állományban végeztek vizsgálatokat és megállapították, hogy a kocsánytalan tölgyekről származó izolátumok virulensebbek, mint a gesztenyéről származók. A kéregmintákon peritéciumokat figyeltek meg. Dallavalle és Zambonelli (1999) vizsgálatai szerint a *C. parasitica* egyéb gazdanövényei a vegetatív kompatibilitást meghatározó gének rekombinációja által növelhetik a kórokozó variabilitását. Szlovák kutatók (Juhásová 2005 – *ex verbis*, Juhásová, Bernadovicová 2001/B) kocsánytalan tölgyekről több esetben sikeresen visszaizolálták a biológiai védekezéshez használt konvertált hipovirulens törzseket is.

Megállapítható, hogy a tölgyeken a hipovirulencia terjedése még nem teljesen tisztázott. Ugyancsak nem ismert a kórokozó genetikai variabilitása sem, ezért a biológiai védekezés a tölgygel elegyes erdőkben mielőbbi kísérleteket igényel.

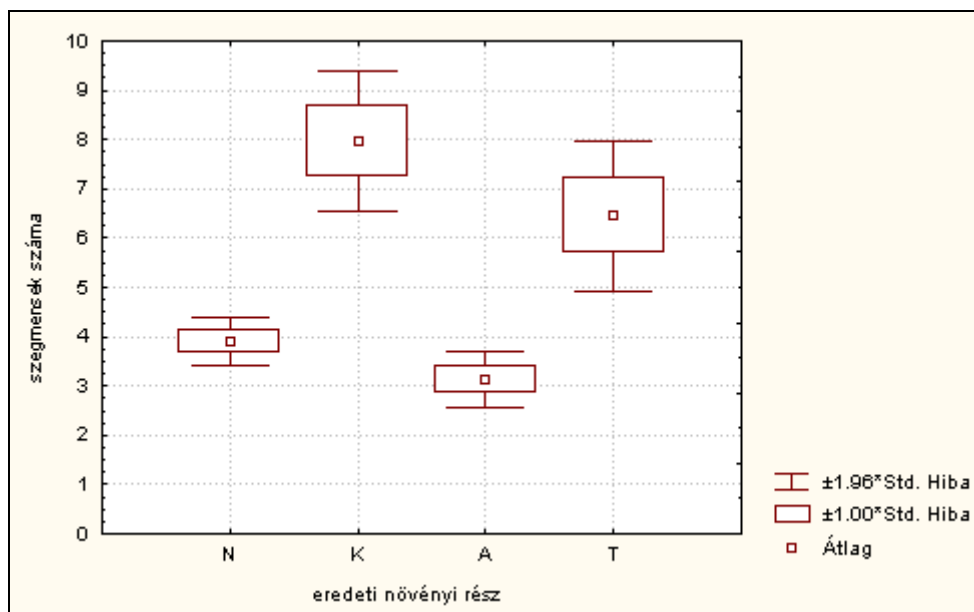
## 5.5. Kóréletti vizsgálatok

A steril kultúrába vitt hajtásrészek 18 %-a kontaminálódott. A sikerrel sterilizált hajtásokat négy hétig tartottam az iniciális kultúrában, majd egyet kiválasztottam közülük, és ezt több cikluson keresztül a multiplikációs táptalajon szaporítottam. A szaporításhoz a szelídesztenye hajtástenyészetek 8 mm-es szegmenseit, és a kallusz-szövetet használtam (52. ábra).



52. ábra Multiplikációs fázisban lévő szelídesztenye-hajtás felosztása T, K, N, A szegmensekre (fotó: Vidóczi H.)

A szaporítás folyamán feljegyeztem az egy szelídesztenye-hajtástenyészetből létrehozható szegmensek számát, a továbbszaporításra alkalmas tenyészetek százalékos arányát (amelyekből legalább kettő szegmens nyerhető), és meghatároztam a multiplikációs koefficiensét. Mindezt annak függvényében, hogy a továbbszaporításra kerülő gesztenye-hajtástenyészet milyen eredetű: nodális, apikális, kallusz vagy teljes hajtás.



53. ábra Négy hét tenyésztés után a következő ciklusban használható szegmensek száma, ha az eredeti növényi rész **N**-nodális szegmens, **K**-kallusz, **A**-apikális rész, **T**-teljes hajtás

A multiplikációs koefficiens értéke megmutatja, hogy egy bizonyos protokoll szerinti szaporítási ciklus végére az adott növény (fajta) átlagosan hány darab továbbszaporításra alkalmas, növekedőképes növényi résszé osztható. Vizsgálataim szerint a multiplikációra leginkább alkalmas növényi részek az alapi kallusz-szövetek illetve a teljes hajtástenyészetek. Hozzájuk képest a nodális és apikális szegmensek multiplikációja mindössze 50 %-os (53. és 54. ábra). A négy tenyésztet összesítve az átlagos multiplikációs koefficiens:

$$MC=4,68.$$

	NS	%RE	MC
N	3,9±0,5	93	3,6
K	8,0±1,5	97	7,8
A	3,1±0,6	76	2,4
T	6,4±1,6	100	6,4

54. ábra Különböző explantátumok multiplikációja (NS-szegmensek száma, %RE-alkalmassági arány, MC-multiplikációs koefficiens)



A különböző nemesített szelídgesztenye-fajták gyakran nagyon rossz multiplikációs koefficienssel rendelkeznek. Vad típusú *Castanea sativa* növényeknél ez 3,65 – 5,01 közötti értéket vesz fel (Ballester és munkatársai 2001). A multiplikáció hatékonysága nagy szezonális variabilitást mutat: júliusban kulminál, ekkor csaknem kétszerese a szeptember-március hónapokban elérhetőnek (Lê 1999). Figyelembe véve, hogy a saját vizsgálataim november-december hónapokban zajlottak, a 4,68-szoros érték jó eredménynek számít, tehát a szelídgesztenye mikroszaporítására jól használható a fentiekben részletezett multiplikációs protokoll.

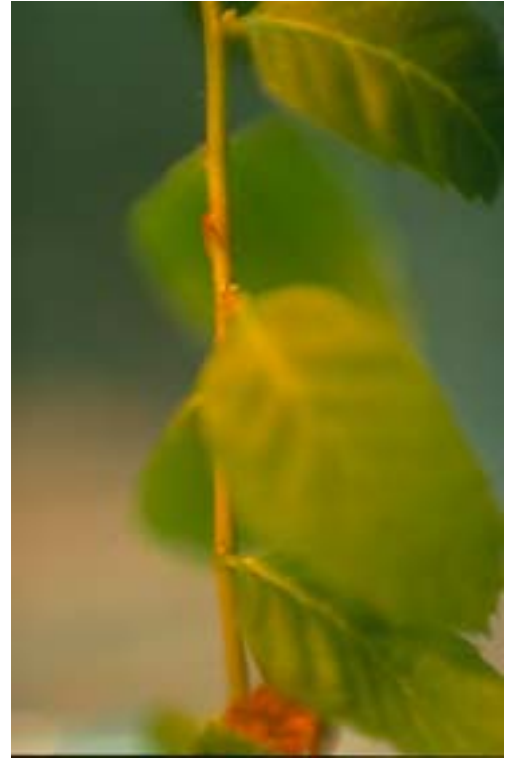
### **5.5.1. *In vitro* virulencia tesztek**

Egy gombatorzsban a hipovirulencia igazolása biztosan csak a kettősszálú RNS-ek kimutatásával lehetséges. Ez egy jól felszerelt mikrobiológiai laboratóriumi háttérrel igénylő, meglehetően költséges vizsgálat.

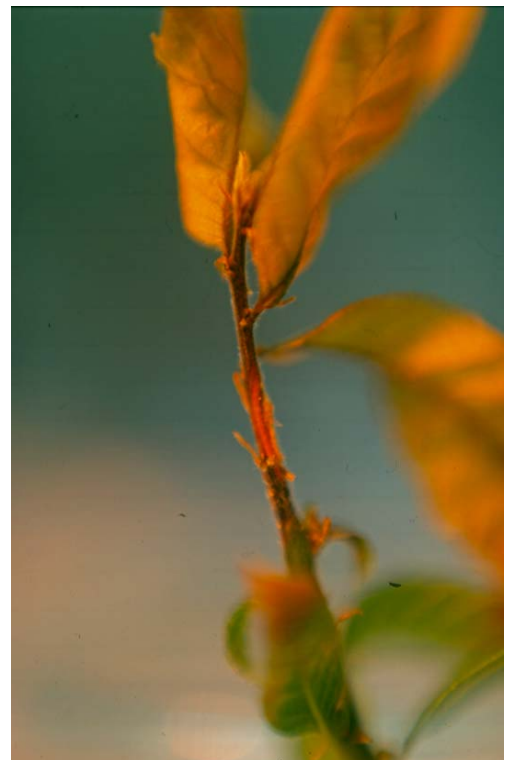
Természetes körülmények között a kórokozó virulens törzseivel fertőzött gesztenyefa néhány éven belül elpusztul, miközben a szállítószövetek szétroncsolódnak, és a növekedő nyílt rákosodás körülveszi a fa törzsét. Ugyanakkor hipovirulens gombatorzs támadásakor felületi rák keletkezik, amely okoz ugyan elváltozást a kérgen, de terjedése lassú és behatárolt, a kambiumot nem pusztítja el, és nem zárja el a víz- és anyagszállítást.

Ennek a vizsgálatnak az volt a célja, hogy bizonyítsa, megállapítható egy gombatorzs virulenciája *in vitro* tenyésztett szelídgesztenye-hajtástenyészetek mesterséges fertőzésével.

A következő képek (55. ábra) a kontroll hajtástenyészeteket ábrázolják négy héttel a sebzés után. Jól látható, hogy a hajtások egészségesek, a szárukon ejtett apró sebzés nem okozta pusztulásukat, apikális nekrozisok nem léptek fel.



55. ábra Kontrollként megsebzett szelídgesztenye-hajtások (fotó: Vidóczy H.)



56. ábra Virulens gombatörzsszel fertőzött szelídgesztenye-hajtások (fotó: Vidóczy H.)

Teljesen mást mutatnak a virulens S21 izolátummal megfertőzött hajtások. A fenti, 56. ábrán jól látható, hogy a kórokozó aktív rákot idézett elő a rajtuk, amely rákok előbb a sebzés feletti részek, majd a teljes hajtás pusztulásához vezettek.



57. ábra A hipovirulens R5 gombatörzssel megfertőzött szelídgesztenye-hajtások (fotó: Vidóczi H.)

A R5 hipovirulens törzs okozta elváltozásokra jellemző, hogy nem vezettek a hajtástenyészetek pusztulásához. Az 57. ábrán szabad szemmel is jól megfigyelhető a szár lokális vastagodása és a micélium, amely körülveszi a sebet. A mesterséges hipovirulens fertőzések kisebb szöveti nekروزist okozhatnak ugyan, de nem okozzák a hajtások elhalását.

Összehasonlítva a virulens és a hipovirulens gombatörzs okozta nekروزisokat, több lényeges különbség mutatkozik. Míg az aktív rákosodások esetében jól látható az epidermisz alatt vertikálisan tovaterjedő micélium, addig a hipovirulens rákok határa éles, a kórokozó nem terjeszkedik akadálytalanul. Ez utóbbi esetekben a kevésbé mély nekروزisokat körülvevő szárrészek élénk zöld színűek, és maga az elhalt rész is gyógyulónak tűnik. A virulens gombatörzs okozta nekروزisok szabálytalanok, éles határvonal nélküliek, a szövetek mélyére hatolnak, vertikális és horizontális növekedésük gyors, a szövetek barnulását okozzák



58. ábra Konvertált gombatörzssel (S21xR5) fertőzött szelídgesztenye-hajtások  
(fotó: Vidóczi H.)

A konvertált hipovirulens S21xR5 törzs hasonló tüneteket idézett elő, mint a R5 gombatörzs. A kórokozó fehér színű micéliuma jól láthatóan körülvette a nekrozisokat, amelyek nem okozták a hajtások vagy a mesterséges fertőzés feletti szár pusztulását (58. ábra). Összehasonlítva a R5 hipovirulens törzs okozta hatásokkal, a konvertált hipovirulens törzs okozta fertőzések után a tenyészetek növekedési erélye valamivel kisebb.

Néhány esetben a táptalaj megfertőződött a *C. parasitica* hifa-töredékeivel, és kialakultak rajta annak telepei. Ezeket az eseteket kizártam az értékelésből, mivel kivétel nélkül a szelídgesztenye-hajtástenyészetek pusztulásához vezettek.

Az 59. ábrán hat hete fertőzött tenyészetek láthatók. Az egyes gombatörzsek okozta különbségek szignifikánsak, tehát ezzel a vizsgálattal egyértelműen elkülöníthetők egymástól a virulens és hipovirulens gombatörzsek. A fertőzések okozta mortalitás a következő:

- kontroll: 0 %,
- S21 (virulens): 75 %,
- S21xR5 (konvertált hipovirulens): 8 %,
- R5 (hipovirulens): 0 %.

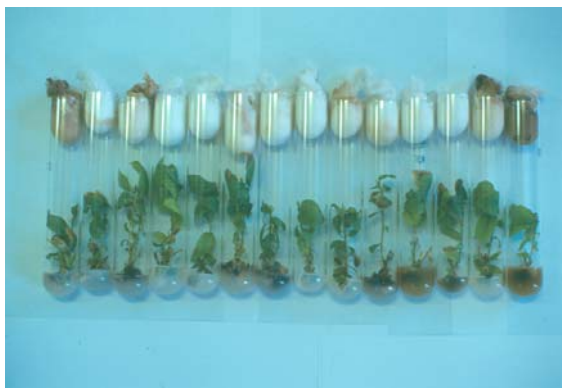




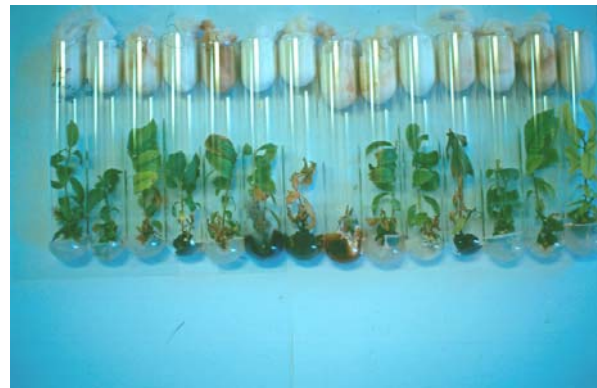
Kontroll



S21



R5



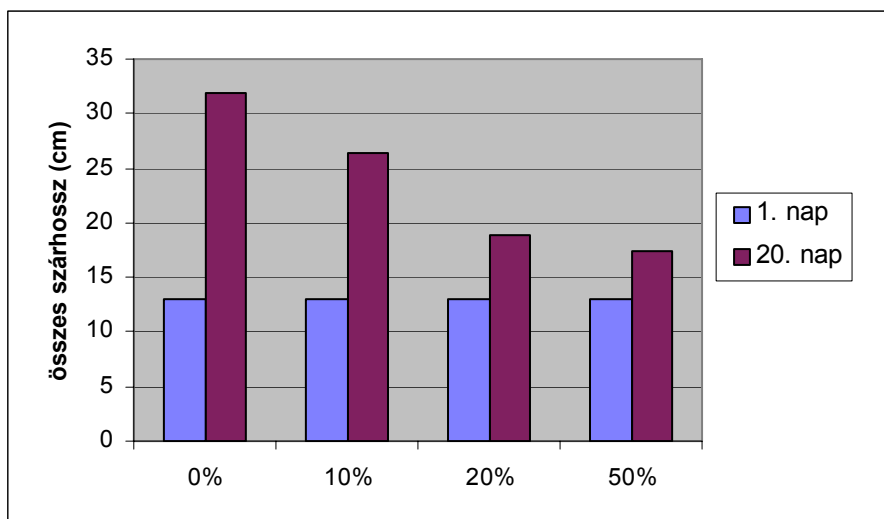
S21xR5

59. ábra *In vitro* fertőzött hajtástenyészetek hat héttel a fertőzés után (fotó: Vidóczi H.)

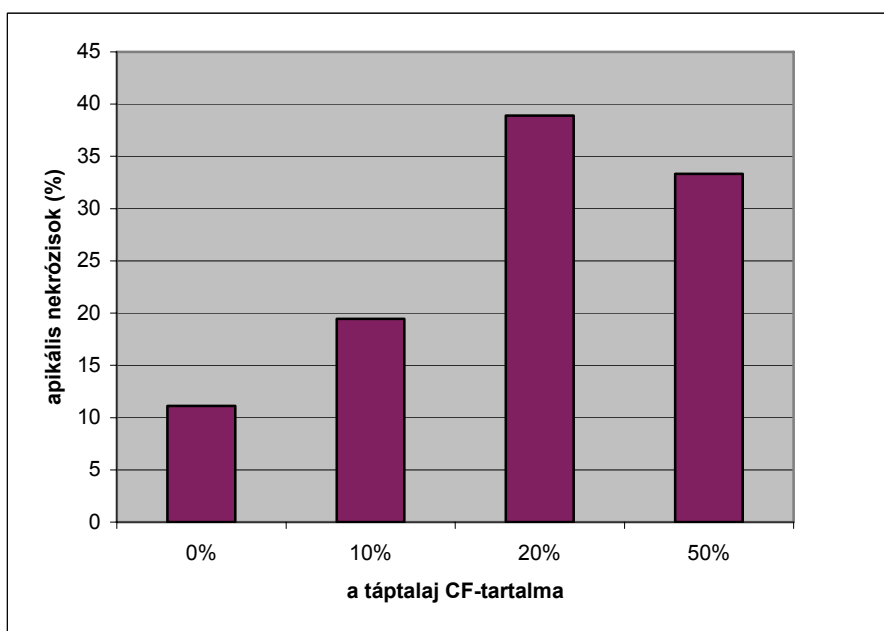
### 5.5.2. A *C. parasitica* kultúra-szűrlet hatása gesztenye hajtásokra

A *C. parasitica* kórokozó gombafaj által termelt, és a táptalajba diffundáló toxinok és anyagcsertermékek a szelídgesztenye életműködését hátrányosan befolyásolják (60. ábra). Az 50 % *C. parasitica* kultúra szűrletet tartalmazó táptalaj a hajtástenyészet kb. 50 %-os növekedéscsökkenését vonta maga után. Ugyancsak szignifikánsan növekedett – a kultúra-szűrlet koncentrációval párhuzamosan - az apikális nekروزisok gyakorisága (61. ábra).

Az elvégzett vizsgálatok jelzés-értékűek. Mivel a szelídgesztenye szomatikus embriogenezise megvalósítható (Sauer, Wilhelm 2001), érdemes lenne a továbbiakban olyan szelekciós vizsgálatokat folytatni, amelyben az embriókultúrák szomaklonális variabilitását kihasználva a kórokozóval szemben rezisztens vonalak lennének nyerhetők.



60. ábra Szelídgesztenye hajtások növekedése a különböző CF-tartalmú táptalajokon



61. ábra Az apikális nektrózisok aránya a táptalaj *C. parasitica* CF-tartalmának függvényében

## 6. Összefoglalás

Ennek a kutatásnak elsődleges célja volt karakterizálni a szelídgesztenye-kéregrákot okozó *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr populációját a Soproni-hegységben, illetve szabadföldi kísérletek során vizsgálni az ellene alkalmazott hipovirulens kezelések hatékonyságát.

Első lépésként a hegység 4070 hektáros erdőterületén felmértem a betegség elterjedését. Megállapítottam, hogy a fertőzöttség a városhoz közeli erdőterületeken általános, és mértéke meghaladja a 30 %-ot, a távolabbi területeken előfordulása gócszerű. A terepi felméréssel párhuzamosan a kórokozó populáció-struktúrájának vizsgálatához kéregmintákat gyűjtöttem. Ezekből a kéregmintákból, és a gesztenyésekből és a kertvárosból származó mintákból izoláltam a kórokozó különböző törzseit. Az izolátumokból a későbbi vizsgálatokhoz törzsgyűjteményt állítottam össze. Megállapítottam, hogy a hegységben a *C. parasitica* hat vegetatív kompatibilitási típusba tartozó törzsei károsítanak. A vegetatív kompatibilitási típusok közül háromnak jelentős az elterjedése (SI, SII, SIII), másik három (SIV, SV, SVII) gyakorlatilag csak néhány izolátummal szerepel. A hegységhez közel, egy fertőszentmiklósi telepített gesztenyében egy hetedik (SVI) típust is azonosítottam.

A vegetatív kompatibilitási típusok elkülönítése után azokat EU-teszter törzsekkel hasonlítottam össze. A kapott eredményeket összevetve a hazai és a nemzetközi szakirodalommal, következtettem a járvány kialakulására és további terjedésére. Megállapítottam, hogy a járvány első hulláma a Kőszegi-hegységből érkezett a Soproni-hegyvidékre. A későbbiekben a távolabbi, délnyugat-dunántúli termőtájból vélhetően antropogén hatásra az epidémia második hulláma érte el a hegységet. Ezután a határmenti erdőterületeken megjelent egy Ausztriában domináns vegetatív kompatibilitási típusba tartozó törzs, amely egyelőre lokális kiterjedésű, de fertőzőképessége nagy. Megállapítottam továbbá, hogy a városkörnyéki gesztenyésekben a kórokozó ivaros szaporodási folyamatai elkezdődtek.

A hipovirulenciára alapozott biológiai védekezés alkalmazásához lehetőleg helyi hipovirulens törzsek szükségesek. Ezek hiányában – mint a Soproni-hegyvidéken is – a helyi virulens törzsek konverziója szükséges. Három sikeres konverziót végeztem Zala és Somogy megyékből származó hipovirulens törzsekkel, az átalakításokat molekuláris biológiai módszerekkel igazoltam: az átalakított törzsekben kimutattam a hipovirulencia



tenyezőjét a 12,7 kb nagyságú kettős-szálú RNS-t. Megállapítottam, hogy a hegyvidéken endogén hipovirulens törzs nem alakult ki. Az átalakított gombatörzsek genetikai azonosságát RAPD analízissel igazoltam.

Az így nyert hipovirulens törzsek gyógyításban való alkalmazhatóságát szabadföldi kísérletek során értékeltem. Az ágfalvi kísérleti területen és a környező gesztenyésekben az általam konvertált, illetve Radócz László által az Intézet rendelkezésére bocsátott konvertált hipovirulens törzsekkel 1996-tól 2000-ig rendszeresen kuratív jellegű kezeléseket végeztem, azaz a nekrozisokat körbe oltottam a kompatibilis hipovirulens törzs tenyészetével. A kezelésekkal nyolc év alatt a fák 90 %-os gyógyulását értem el. Megállapítottam, hogy egy területen több kompatibilitási típus előfordulása esetén kombinált oltási módszer is eredményesen alkalmazható, amelynek lényege, hogy a konvertált hipovirulens törzsek mindegyikét felhasználom egy-egy nekrozis körbeoltásához.

A kezeléseik során megállapítottam, hogy évről évre újabb vegetatív kompatibilitási típusok megjelenésére kell számítani, ezért a biológiai védekezés hatékony alkalmazása folyamatos populáció-struktúra vizsgálatokat igényel. A kezeléseik eredményeként elkezdődik hipovirulencia terjedése, ami évente közel két métert jelent.

Megállapítottam, hogy a súlyosan fertőzött, és nagy fertőzési nyomás alatt lévő fák is eredményesen gyógyíthatók a törzs és a főágak hosszirányú oltásával, mivel így egy védelmi zónát hozunk létre, amelyet a virulens kórokozó nem képes áttörni, ezáltal a fa fennmaradásához szükséges víz- és tápanyagszállítás biztosított.

A gombapopuláció struktúrájának ismeretében lehetővé vált az 1996-ban elkezdett ágfalvi kísérletek kiterjesztése, a gyakorlatban is alkalmazott biológiai védekezési program elindítása a Sopron környéki gesztenyésekben.

A hipovirulenciára alapozott biológiai védekezésben fontos lépés a helyben izolált törzsek virulenciájának meghatározása, az esetleges hipovirulencia minél egyszerűbb megállapítása. Megállapítottam, hogy a gesztenye-hajtásokon vagy alma gyümölcsökön elvégzett virulenciai tesztek nem adnak megbízható eredményt az egyes gombatörzsek virulenciájára vonatkozóan. A szelídgeszténye és a kórokozó *in vitro* kölcsönhatásának vizsgálata viszont egy a gyakorlatban gyorsan és megbízhatóan alkalmazható tesztet eredményezett.

Ehhez elsősorban szükségem volt mikroszaporítással előállított és steril kultúrában tartott szelídgeszténye-hajtásokra. P24 táptalaj kiegészítve 0,2 mg/l benzil-amino-purin citokininnel magas multiplikációs koefficienszt értem el. Megállapítottam, hogy a teljes

hajtásnak és a kallusznak mint explantátumnak közel kétszer olyan jó a multiplikációs képessége, mint a nodális vagy apikális szegmenseknek.

A fenti protokoll szerint tenyésztett szelídgesztenye-hajtásokat *in vitro* fertőttem a *C. parasitica* virulens és hipovirulens izolátumaival, majd négy hetes tenyésztést követően értékeltem az eredményeket.

Megállapítottam, hogy *in vitro* fertőzve szelídgesztenye-hajtástenyészeteket elkülöníthetők egymástól a *C. parasitica* hipovirulens és a virulens izolátumai.

Megállapítottam továbbá, hogy a *C. parasitica* kultúra-szűrletének hatása hátrányosan befolyásolja a szelídgesztenye-hajtások növekedését, gyakoribbá teszi az apikális nektrózsok előfordulását.

Ennek a kis területre kiterjedő, elsődlegesen gyakorlati célú kutatásnak egyik legfontosabb eredménye, hogy a nagyobb, ismert szelídgesztenye-ültetvényekre vonatkozó vizsgálatok még nem reprezentálják a gombapopuláció struktúráját, és nem szolgáltatnak megfelelő alapot a hipovirulens kezelésekhez. Figyelemreméltó, hogy a két domináns típus szinte az egész hegyvidéken elterjedt, s várhatóan ez fog történni az eddig azonosított másik négy típussal is. Ezzel a folyamattal párhuzamosan több okból is a kórokozó újabb vegetatív kompatibilitási típusba tartozó törzsei lépnek majd fel: egyrészt a kórokozó természetes terjedésének hatására a szomszédos kiemelt jelentőségű termőtájából (Kőszegi-hg., Rozália-hg. - Ausztria), ahol a *C. parasitica* más típusba tartozó törzsei károsítanak. Emellett a kórokozó helyi populációján belül idővel egyre inkább általánossá válnak az ivaros folyamatok, és ennek következtében - a vegetatív kompatibilitást szabályozó gének rekombinálódásával - új, endogén vegetatív kompatibilitási típusok megjelenése várható. Végül meg kell említenünk az esetleges mutagén hatások miatt bekövetkező diverzitás-növekedést is.

Ektogén hipovirulens törzsekkel végzett kezelések ivaros szaporodási folyamatokon keresztül szintén új vegetatív kompatibilitási típusok megjelenéséhez vezetnek. Külön ki kell hangsúlyoznunk tehát, hogy csak a helyi hipovirulens, ezek hiányában konvertált és azonosított izolátumokra alapozott biológiai védekezés alkalmazandó.

Mivel a Soproni-hegységben szelídgesztenyével elegyes tölgyesekben is előfordul a betegség, további kutatásokat igényel a kórokozó és a hipovirulencia tölgy fajokon való terjedése.

A vegetatív kompatibilitási típusok számát tekintve hazánkban még közel sem olyan aggasztó a helyzet, mint az Egyesült Államokban, vagy akár a kiemelt szelídgesztenye-termelő európai országokban, így például Olaszországban, Franciaországban. Addig kell lépünk és mind nagyobb területen elindítani a biológiai védekezési programot, amíg azt nem korlátozza jelentősen a kórokozó vegetatív kompatibilitási típusainak nagy diverzitása.

Már ma is érezhető azonban ez a kedvezőtlen tendencia az ágfalvi kísérleti területen, ahol több nekrozis kezelése is sikertelen volt a két gombatorzs között fennálló inkompatibilitás következtében. Hasonló a helyzet a kertváros északnyugati részén, ahol szintén átfedi egymást a két domináns típus áréája. A védekezés gazdaságos kivitelezhetősége végett célszerűnek tartok további, a kombinált inokulálásra irányuló vizsgálatokat.

A biológiai védekezés hatékony alkalmazása a *C. parasitica* populáció-struktúrájának naprakész ismeretében rejlik. S mivel napjainkra az egyes termőtájokban azonos vegetatív kompatibilitási típusai is előfordulnak a kórokozónak, különösen fontos a nemcsak hazánkra, de az egész kontinensre kiterjedő kooperáció ebben a kutatási témában.

## 7. Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek, dr. Szabó Ilonának, aki nélkül ez az értekezés nem jött volna létre. Munkámat végig figyelemmel kísérte, iránymutató javaslataival segítette a célkitűzésektől a kézirat összeállításáig. Külön köszönetemet fejezem ki dr. Varga Máriának, hogy együtt dolgozhattunk a szabadföldi kísérletekben, és a közösen végzett munka során betekintést nyerhettem a növényvédelem egyéb területeire. Továbbá köszönet illeti Polgár Sándornét, aki a laboratóriumi munkákban nyújtott nagy segítséget.

Külön köszönetemet fejezem ki dr. Eva Wilhelmnek a molekuláris-genetikai vizsgálatok elvégzéséhez biztosított lehetőségért, és dr. Antonio Ballesternek a mikroszaporítás technikájának elsajátításához nyújtott segítségéért.

S nem utolsósorban köszönetem fejezem ki mindazoknak, akik hozzájárultak ahhoz, hogy ez az értekezés megszülethessen.

## 8. Felhasznált irodalom

- ALLEMANN, C., HOEGGER, P., HEINIGER, U., RIGLING, D. 1999: Genetic variation of *Cryphonectria hypoviruses* (CHV1) in Europe, assessed using restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers. *Molecular Ecology*, 8: 843-854.
- ANAGNOSTAKIS, S. L. 1977: Vegetative incompatibility in *Endothia parasitica*. *Experimental Mycology* 1: 306-316.
- ANAGNOSTAKIS, S. L. 1983: Conversion to curative morphology in *Endothia parasitica* and its restriction by vegetative compatibility. *Mycologia*, 75: 777-780.
- ANAGNOSTAKIS, S. L., WAGGONER, P. E. 1981: Hypovirulence, vegetative incompatibility and the growth of cankers of chestnut blight. *Phytopathology*, 71: 1198-1202.
- ASSANTE, G., PIAGNANI, C., NASINI, G., SCALISI, P., VERCESI, A., ZOCCHI, G. 2001: *In vitro* interaction between *Castanea spp.* tissue cultures and *Cryphonectria parasitica* metabolites. COST G4 Multidisciplinary Chestnut Research. Final Meeting, May 23-27, 2001, Ascona, Ticino, Switzerland: 35.
- BALLESTER, A., BOURRAIN, L., CORREIDORA, E., GONÇALVES, J. C., LÊ, C. L., MIRANDA-FONTAÍNA, M. E., SAN-JOSÉ, M. C., SAUER, U., VIEITEZ, A. M., WILHELM, E. 2001: Improving chestnut micropropagation through axillary shoot development and somatic embryogenesis. *Forest Snow and Landscape Research* 76: 460-467.
- BALLESTER, A., SAN-JOSÉ, M. C., VIDAL, N., FERNÁNDEZ-LORENZO, J. L., VIEITEZ, A. M. 1999: Anatomical and biochemical events during *in vitro* rooting of microcuttings from juvenile and mature phases of chestnut. *Annals of Botany*, 83: 619-629.
- BARTHA D., MÁTYÁS Cs. 1995: Erdei fa- és cserjefajok előfordulása Magyarországon. Sopron
- BAZZIGHER, G. 1981: Selection of blight-resistant chestnut-trees in Switzerland. *Eur. J. For. Path.*, 11: 199-207.
- BAZZIGHER, G., MILLER, G. A. 1987: Selektion *Endotia*-widerstandsfähiger Kastanien in der Schweiz – eine Quelle wertvollen Erbgutes. *Schweiz. Z. Forstwes.* 138: 799-813.
- BEREND I. 1953: Tudnivalók az *Endothia parasitica*, a szelídgesztenye pusztítójának nagymérvű terjedéséről. *A növényvédelem időszerű kérdései* 3: 11-12.
- BISSEGGER, M., HEINIGER, U. 1991: Chestnut blight (*Cryphonectria parasitica*) north of the Swiss Alps. *Eur. J. For. Path.*, 29: 97-102.

- BLAYDE, D. F. 1966: Interaction of kinetin and various inhibitors in the growth of soybean tissues. *Physiol. Plant*, 8: 748-753.
- BONDOR A. 1984: A szelídgesztenye (*Castanea sativa* Mill.) fatermése, termőhelye. Kandidátusi értekezés. EFE, Sopron
- CORTESI, P., RIGLING., D., HEINIGER, U. 1998: Comparison of vegetative compatibility types in Italian and Swiss subpopulations of *Cryphonectria parasitica*. *Eur. J. For. Path.*, 28, 167-176.
- CSAPODY I., CSAPODY V., ROTT F. 1966: Erdei fák és cserjék. Országos Erdészeti Főigazgatóság. Budapest
- DALLAVALLE, E., ZAMBONELLI, A. 1999: Epidemiological role of strains of *Cryphonectria parasitica* isolated from hosts other than chestnut. *Eur. J. For. Path.*, 29. 97-102.
- DANSZKI I. 1963: Magyarország erdőgazdasági tájainak erdőfelújítási, erdőtelepítési irányelvei és eljárásai. Nyugat-Dunántúl erdőgazdasági tájcsoport. Országos Erdészeti Főigazgatóság. Mezőgazdasági Könyv- és Folyóiratkiadó Vállalat. Budapest: 443-449.
- DAY, P. R., DODDS, J. A., ELLISTON, J. E., JAYNES, R. A., ANAGNOSTAKIS, S. L. 1977: Double-stranded RNA in *Endothia parasitica*. *Phytopathology*, 67: 1393-1396.
- DODDS, J. A. 1980: Revised estimates of the molecular weights of dsRNA segments in hypovirulent strains of *Endothia parasitica*. *Phytopathology*, 70: 1217-1220.
- EKE I., GÁL T. 1975: Az *Endothia parasitica* (Murr.) Anderson elterjedése Magyarországon és a védekezés lehetőségei. *Növényvédelem*, 11: 405-407.
- ELKINS, J. R., GRIFFIN, G. J., STIPES, R. J. 1978: Blight development and methyl-2-benzimidazole carbamate levels in bark tissues of American chestnut trees following soil injection of benomyl. *Proc. Am. Chestnut Symp. West Wirginia University Books, Morgantown*: 122.
- GENCSI L., VANCSURA R. 1992: Dendrológia. Erdészeti növénytan II. Mezőgazda Kiadó. Budapest
- GRENTE, J. 1965: Les formes hypovirulentes d' *Endothia parasitica* et les espoir de lutte contre le chancre du châtaignier. *Acad. Agric. France*, 51: 1033-1036.
- GRENTE, J., SAURET, S. 1969: L' hypovirulence exclusive, est-elle controlée par des determinants cytoplasmiques? *C. R. Hebd. Sceances Acad. Sci.* 268: 3173-3176.
- GRESSHOFF, P. M., DOY, C. H. 1972: Development and differentiation of haploid *Lycopersicon esculentum* (tomato). *Planta*, 17: 161-170.
- GUÉRIN, L., ROBIN, C. 2003: Seasonal effect on infection and development of lesions caused by *Cryphonectria parasitica* in *Castanea sativa*. *Eur. J. For. Path.*, 33: 223-235.



- HAWKSWORTH, D.L., KIRK, P.M., SUTTON, B.C., PEGLER, D.N. 1995: Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. Eight Edition, CAB International, Kew.
- HELLER, R. 1953: Recherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux cultivés in vitro, Ann. Sci. Nat. Bot. Biol., 14: 473-497.
- HEINIGER, U., CORTESI, P., ROBIN, C., COLINAS, C., PERLEROU, C., RIGLING, D., SOTIROVSKI, K., TRESTIC, M., USCUPIC, M. 1998: *Cryphonectria parasitica*: vegetative compatibility groups in Europe. The Second International Chestnut Symposium. INRA-Bordeaux, France, 19-23 October 1998.
- HEINIGER, U., ROETHLISBERGER, V., HOEGGER, P., RIGLING, D. 1999: Virulence tests for *C. parasitica*: in vivo and in vitro. COST G4 Multidisciplinary Chestnut Research. Sopron, Hungary. 5-9 May 1999: 41.
- HOGAN, E. P., GRIFFIN, G. J. 2002: Incomplete movement of *Cryphonectria hipovirus 1* within a vegetative compatibility type of *Cryphonectria parasitica* in natural cankers on grafted American chestnut trees. Eur. J. For. Path., 32: 331-344.
- JUHÁSOVÁ, G., BERNADOVICOVÁ, S. 2001/A: *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr and *Phytophthora spp.* in chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Slovakia. Forest Snow and Landscape Research 76: 373-377.
- JUHÁSOVÁ G., BERNADOVICOVÁ S. 2001/B: The results of biological control of chestnut tree (*Castanea sativa* Mill.) in Slovakia. COST G4 Multidisciplinary Chestnut Research. Final Meeting, May 23-27, 2001, Ascona, Ticino, Switzerland: 81
- JUHÁSOVÁ G., KULCSAROVÁ K. 2002: A *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr előfordulása tölgyeken. 48. Növényvédelmi Tudományos Napok. Budapest, 2002. március 6-7: 79.
- JUHÁSOVÁ G., RADÓCZ L. 1994: Biológiai védekezés a szelídgesztenye-kórt előidéző gomba (*Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr) ellen a kórokozó hipovirulens törzseinek felhasználásával. 40. Növényvédelmi Tudományos Napok. Budapest, 1994. február 22-23: 111.
- KÖRTVÉLY, A. 1970: A gesztenye endotíás kéregelhalása. Növényvédelem, 6: 358-361.
- LÊ, C. L. 1999: In vitro multiplication and rooting of clone Marigoule. COST G4 Multidisciplinary Chestnut Research. 5-9 May 1999, Sopron, Hungary: 20-22.
- LIU Y.-C., DOUBLE, M. L., MACDONALD, W. L., MILGROOM, G. (2002): Persistence of *Cryphonectria hipoviruses* after their release for biological control of chestnut blight in West Virginia forests. Eur. J. For. Path., 32: 345-356.

- LLOYD, G., MCCOWN, B. 1980: Commercially feasible micropropagation of Mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. Comb. Proc. Int. Plant Prop. Soc. 30: 421-427.
- LUISI, N., GENTILE, T. M., SICOLI, G., TURCHETTI, T. 1992: Outbreaks of *Cryphonectria parasitica* on *Quercus* species and their epidemical role. International Congress Recent Advances in Studies on Oak Decline, Selva di Fasano (Brindisi), Italy. 13-18 September 1992: 95-104.
- MIRANDA-FONTAINA, M. E., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. 1998: Clonal variation in micropropagation of chestnut, COST G4 Multidisciplinary Chestnut Research, Santiago de Compostela, Spain, 14-16 May 1998: 14-16.
- MOORE, J. N., BALLINGTON, J. R. JR. 1991: Genetic Resources of Temperate Fruit and Nut Crops. International Society for Horticultural Science. Wageningen
- MURASHIGE, T., SKOOG, F. 1962: A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- PALLAGI G. 2003: A *Cryphonectria parasitica* vizsgálata tölgyeken és szelídgesztenyén a Soproni-hegyvidéken. Diplomaterv, Nyugat-Magyarországi Egyetem, Sopron
- PIAGNANI, C., ASSANTE, G., SCALISI, P., ZOCCHI, G., VERCESI, A. (2002): Growth and physiological responses of chestnut calli to crude extracts of virulent and hypovirulent strains of *Cryphonectria parasitica*. Eur. J. For. Path., 32: 43-53.
- PIAGNANI, C., FAORO, F., SANT, S., VERCESI, A. (1997). Growth and ultrastructural modifications to chestnut calli induced by cultura filtrates of virulent and hypovirulent *Cryphonectria parasitica* strains. Eur. J. For. Path., 27: 23-32.
- QUORIN, M., LEPOIVRE, P. H. 1977: Improved medium for *in vitro* culture of *Prunus* sp. Acta Horticultura, 78: 437-442.
- RADÓCZ L. 2001: Study of subpopulations of the chestnut blight (*Cryphonectria parasitica*) fungus in the Carpatian basin. Forest Snow and Landscape Research 76: 368-372.
- RADÓCZ L. 2002: A gesztenye kórokozói. Fertőző betegségek. A szelídgesztenyekór. In: Radócz L. (szerk.). A héjasok növényvédelme. Szaktudás Kiadó Ház. Budapest: 95-106.
- RADÓCZ L., SZABÓ I., VARGA M. 1997: A szelídgesztenyekór (*Cryphonectria parasitica* [Murr.] Barr) elleni biológiai védekezés kutatásának hazai eredményei. Növényvédelem, 33: 3-10.
- ROANE, M. K.-GRIFFIN, G. J.-ELKINS, J. R. 1986: Chestnut Blight, Other Endothia Diseases, and the Genus *Endothia*. APS Press. St. Paul. MN. USA

- ROBIN, C., ANZIANI, C., GIRAUD, A., ROLLAND, G. 2001: Chestnut blight in France: results of 5-years study on *Cryphonectria parasitica* populations. COST G4 Multidisciplinary Chestnut Research. Final Meeting, May 23-27, 2001, Ascona, Ticino, Switzerland: 33.
- ROBIN, C., HEINIGER, U. 2001: Chestnut blight in Europe: Diversity of *Cryphonectria parasitica*, hipovirulence and biocontrol. Forest Snow and Landscape Research 76: 361-367.
- ROTH GY. 1908: Érdekesebb esetek a Közponi Erdészeti Kísérleti Állomás munkaköréből. Erdészeti Kísérletek 10: 125-128.
- SANCHEZ, M. C., SAN-JOSÉ, M. C., FERRO, E., BALLESTER, A., VIEITEZ, A. 1997: Improving micropropagation conditions for adult-phase shoots of chestnut. Journal of Horticultural Science.72: 433-443.
- SAUER, U., WILHELM, E. 2001: Improving maturation and germination conditions for SE of European chestnut. COST G4 Multidisciplinary Chestnut Research. Final Meeting, May 23-27, 2001, Ascona, Ticino, Switzerland: 33.
- SCHAFLEITNER, R., WILHELM, E. 2001: Assesment of stress gene expression in chestnut (*Castanea sativa* Mill.) upon pathogen infection (*C. parasitica* [Murr.] Barr) and wounding. Forest Snow and Landscape Research 76: 409-414.
- SCHENK, R. U., HILDEBRANDT, A. C. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. Can. J. Bot., 50:199-204.
- SEEMANN, D. 2001: Plant health and quarantine regulations of the European Union for *Cryphonectria parasitica*. Forest Snow and Landscape Research 76: 402-404.
- SERRES, R., READ, P. HACKETT, W., NISSEN, P. (1990): Rooting of American chestnut microcuttings. J. Environ. Hort. 8: 86-88.
- SÓTONYI J., APONYINÉ G. I. 1996: A gesztenye krifonektriás kéregelhalása, biológiai védekezés lehetősége Magyarországon. Integrált termesztés a kertészetben 17. 1996. november 26. Budapest: 58-76.
- SZABÓ I. 2003: Erdei fák betegségei. Szaktudás Kiadó Ház. Budapest
- TARCALI G.- RADÓCZ L. 2003: Examination of Hungarian populations of *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr on oak. Proc. 3rd International Plant Protection Symposium (3rd IPPS) at Debrecen University, Debrecen, Hungary: 95-100.
- TEASDALE R. 1992: Formulation of plant culture media and applications therefore. International Publication N° WO 92/07460, Patent N° Europe: 92902531.0, Forbio PTY Ltd., Queensland, Australia

- TURCHETTI, T. 1982: Hypovirulence in chestnut blight and some practical aspects in Italy. *Eur. J. For. Path.*, 12: 414-417.
- TURCHETTI, T., MARESI, G. 1991: Inoculation trials with hypovirulent strains of *Cryphonectria parasitica*. *Eur. J. For. Path.*, 21: 65-70.
- TURCHETTI, T., MARESI, D., APONYI I., SÓTONYI J., HERTELENDY L. 1996: Biológiai védekezés a szelídgesztenye kéregelhalása ellen. Integrált termesztés a kertészetben 17. 1996. november 26. Budapest: 1-23.
- VARGA M., SZABÓ I. 1995: A szelídgesztenye kéregrákja [*Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr] a Sopron környéki gesztenyésekben. 42. Növényvédelmi Tudományos Napok. Budapest, 1995. február 21-22: 115.
- VIDÓCZI H., VARGA M., SZABÓ I., RADÓCZ L. 2000. A szelídgesztenye-kéregrák elleni biológiai védekezés lehetőségei a Soproni-hegyvidéken. *Növényvédelem* 36: 53-59.
- VIEITEZ, A., M., VIEITEZ, M. L., VIEITEZ, E. 1986: Chestnut (*Castanea spp.*) In: *Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 1.: Trees I.* (Bajaj, Y.P.S., Ed.). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg: 393-414.
- WAINDINGER, E. M., RODKACHANE, P. 1993: Investigations on micropropagation of adult chestnut. *Proceedings of the International Congress on Chestnut. Spoleto, October 20-23. 1993: 205-210.*
- WRONSKI, R., KUDERA, U., WILHELM, E. 1997: Characterization of *Cryphonectria parasitica* strains by random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique and conventional methods. *Eur. J. For. Path.*, 27: 95-103.
- XING, Z., SATHWELL, M. F., POWELL, W. A., MAYNARD, C. A. 1997: Micropropagation of American chestnut: increasing rooting rate and preventing shoot-tip necrosis, *In vitro Cell. Dev. Biol. –Plant.* 33: 43-48.

## **9. Mellékletek**

1. Az ágfalvi kísérleti területen végzett kezelések és értékelésük
2. Az ágfalvi kísérleti terület vázlatos térképe
3. A terepi felmérés eredményei
4. A szelídgesztenye elterjedése a Soproni-hegyvidéken
5. A szelídgesztenye fertőzöttsége a Soproni-hegyvidéken

1. melléklet Az ágfalvi kísérleti területen végzett kezelések és értékelésük

fa ssz.	kezelés, értékelés időpontja	gyógyulás éve	alkalmazott hipovirulens gombatörzs	
<b>1</b>	1996.05.09		A3xBf	
	1997.05.16			a beoltott ág szépen gyógyul
	1997.10.13			erősen kalluszosodik, pedig igen nagy volt a nekrozis
	1998.06.25			új hipovirulens rákosodás (?), kalluszosodás
	1999.04.20		A3xBf	jól kalluszosodik, a törzs felső részén újabb kezelés kell-végigoltva a törzs
	2000.09.27			szép kalluszok
	2004.09.15	2004		szép gyógyulás
<b>2</b>	1996.05.09		A3xBf	
	1997.05.16			gyógyul
	1997.10.13			
	1998.06.25			
	1999.04.20			
	2000.09.27			
	2004.09.15	2004		meggyógyult
<b>3</b>	1996.05.09		A3xBf	
	1997.05.16			gyógyult, ki kellene egészíteni
	1997.10.13		A3xBf	jónak tűnő oltás, bár feljebb új nekrozis
	1998.06.25			
	1999.04.20			kivágták
<b>4</b>	1996.10.16		F2xBf	2 nekrozis kezelve
	1997.05.16			felső gyógyult, alsó lefelé továbbterjedt, bár nem volt teljesen körbeoltva
	1997.10.13			terjedő nekrozis, új sarjak
	1998.06.25		S21xR5	újraoltás hazai konvertált törzsszel (1 egész petri)
	1999.04.20			kalluszosodás, de még bizonytalan
	2000.09.27			
	2004.09.15	2004		sikeres, nagyon szép gyógyulás, spontán hipovirulens rákosodás a fán, és 15 m-re a fától



fa ssz.	kezelés, értékelés időpontja	gyógyulás éve	alkalmazott hipovirulens gombatorzs	
<b>5</b>	1996.10.16		A3xBf	két oltás
	1997.05.16			felső oltás jó, alsó továbbterjedt
	1997.10.13		A3xBf	újabb ága fertőzött, ez oltva, előző oltások jónak tűnnek
	1998.06.25		S21xR5	kalluszképződés, kéreg lehántása kísérletképpen, tisztogatás kell
	1999.04.20			bizonytalan
	2000.09.27			
	2004.09.15	2004		sikeres, nagyon szép eredmény, spontán hipovirulens rákok, a fa meggyógyult
<b>6</b>	1996.10.16		A3xBf	kettős sarj
	1997.05.16			a beoltott nekrozis alatt friss sarjak
	1997.10.13			oldalt bizonytalan, másutt szép oltások,
	1998.06.25			a sarjak elhaltak, tisztogatás kell
	1999.04.20			
	2000.09.27			
	2004.09.15	2004		a fa meggyógyult
<b>7</b>	1996.10.16		A3xBf	
	1997.05.16			nem terjedt tovább
	1997.10.13		A3xBf	az oltás jónak tűnik, de újabb nekrozisok a tőnél
	1998.06.25			
	1999.04.20		A3xBf	új kezelés, tisztogatás, eredeti kalluszosodik
	2000.09.27		A3xBf	a törzs kétoldali kezelése
	2004.09.15	2004		a fa meggyógyult
<b>8</b>	1996.10.16		A3xBf	
	1997.05.16			nem terjedt tovább
	1997.10.13			túlment az oltási pontokon, bizonytalan
	1998.06.25			rosszul sikerült oltás
	1999.04.20			
	2000.09.27			
	2004.09.15	2004		a fa meggyógyult

fa ssz.	kezelés, értékelés időpontja	gyógyulás éve	alkalmazott hipovirulens gombatörzs	
<b>9</b>	1996.10.16		A3xBf	
	1997.05.16			(tőnél) egyik oldala továbbterjedt
	1997.10.13			igen szép kallusz
	1998.06.25			gyógyult nekrosis, 2 m magasan egy ágat le kellene vágni
	1999.04.20		A3xBf	erős kallusz, tisztogatás és felsőbb kezelés kell
	2000.09.27			erős kalluszosodás
	2004.09.15	2004		a fa meggyógyult
<b>10</b>	1996.10.31		A3xBf	tőnél oltva
	1997.05.16			gyógyul a nekrosis
	1997.10.13			erős kalluszosodás
	1998.06.25			
	1999.04.20		A3xBf	jó kallusz, de a felső törzsrészen új kezelés kell
	2000.09.27			
	2004.09.15	2004		a fa meggyógyult
<b>11</b>	1996.10.31		A3xBf	preventív
	1997.05.16			repedezik a kéreg
	1997.10.13			hipovirulens rákosodás
	1998.06.25			
	1999.04.20			
	2000.09.27			nagyon szép
	2004.09.15			koronában egy elszáradt ág, különben hipovirulens rákosodás
<b>12</b>	1997.05.16		A3xBf	sarj oltva
	1997.10.13			szép, gyógyuló seb, sok piknídium
	1998.06.25			tisztogatás
	1999.04.20		A3xBf	felsőbb kezeléseket kellene, szép kallusz
	2000.09.27			
	2004.09.15	2004		meggyógyult

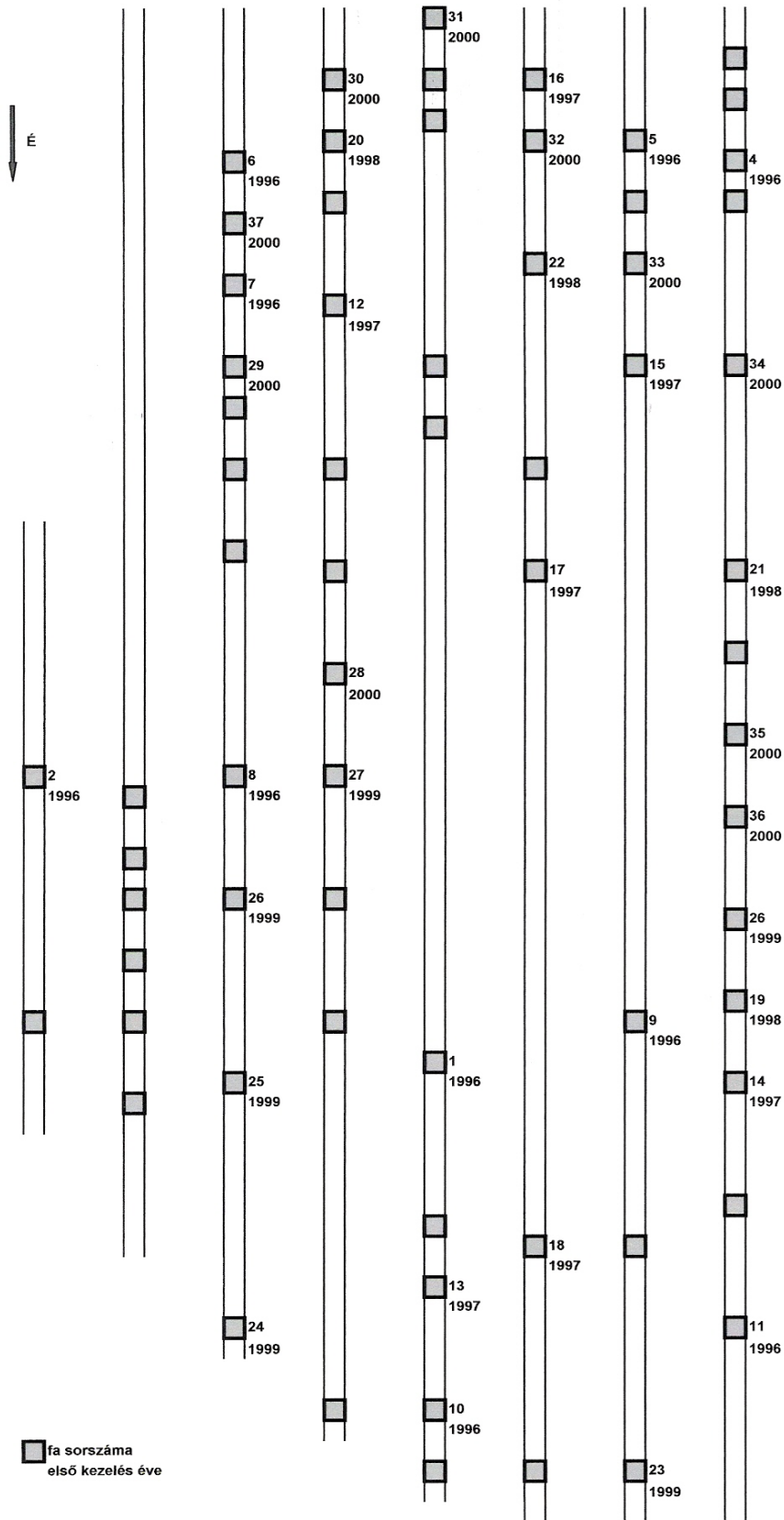
fa ssz.	kezelés, értékelés időpontja	gyógyulás éve	alkalmazott hipovirulens gombatörzs		
<b>13</b>	1997.05.13		A3xBf	igen szép, kalluszosodó	
	1997.10.13			eredményes, szép oltás	
	1998.06.25	1998		eredményes, szép oltás	
	1999.04.20				
	2000.09.27				
	2004.09.15			meggyógyult	
<b>14</b>	1997.05.16		A3xBf		
	1997.10.13			főleg az ágvilánál túlment az oltási pontokon, bonyolult oltás volt	
	1998.06.25		A3xBf	új oltás	
	1999.04.20			új hipovirulens nekrosis?	
	2000.09.27			erős kallusz	
	2004.09.15			spontán hipovirulens rákok, bár a kezelt ág elpusztult	
<b>15</b>	1997.06.04		A3xBf		
	1997.10.13		A3xBf	ág eltávolítás, oltás, az előző szépen gyógyul	
	1998.06.25			szépen gyógyul	
	1999.04.20				
	2000.09.27	2000			
	2004.09.15			a fa meggyógyult	
<b>16</b>	1997.10.13		A3xBf	ágvillás oltás	
	1998.06.25			szépen gyógyul	
	1999.04.20		S21xR5, A3xBf	ág eltávolítás, felső kombinált kezelés	
	2000.09.27				
	2004.09.15	2004		a fa meggyógyult	
<b>17</b>	1997.06.04		A3xBf		
	1997.10.13			sikerés kezelés, nem ment tovább az oltási pontokon	
	1998.06.25				
	1999.04.20			tisztogatás	
	2000.09.27				
	2004.09.15	2004		a fa meggyógyult	

fa ssz.	kezelés, értékelés időpontja	gyógyulás éve	alkalmazott hipovirulens gombatorzs	
<b>18</b>	1997.10.13		A3xBf	tőoltás, sok sarj
	1998.06.25			sikeresnek tűnik
	1999.04.20		A3xBf	sikeres tőoltás, a levágott sarjak körül új kezelés, tisztogatás
	2000.09.27			
	2004.09.15	2004		a fa meggyógyult
<b>19</b>	1998.06.25		A3xBf	tőoltás, villás fa
	1999.04.20	1999		kalluszosodás, esetleg új hipovirulens nekrozis
	2000.09.27			
	2004.09.15			szép gyógyulás, számos hipovirulens rákosodás
<b>20</b>	1998.06.25		A3xBf	bonyolult tőoltás, erős tisztogatás kell
	1999.04.20		A3xBf	oltás sikerült, újabb felső fertőzés, tisztogatás kell
	2000.09.27			tisztogatás, hipovirulens rákosodások
	2004.09.15	2004		a fa meggyógyult
<b>21</b>	1998.06.25		A3xBf	oltás a 2. ágvilágban és magasan
	1999.04.20			kalluszképződés
	2000.09.27	2000		a fa meggyógyult
	2004.09.15			szép gyógyulás, számtalan hipovirulens rákosodás mindenütt az ágakon
<b>22</b>	1998.06.25		A3xBf	tőoltás, törzs 1,5 m-en oltva
	1999.04.20			kalluszosodik
	2000.09.27	2000		hipovirulencia terjedése, a fa meggyógyult
	2004.09.15			
<b>23</b>	1999.04.20		A3xBf	törzs oltása
	2000.09.27			kalluszosodik
	2004.09.15	2004		a fa meggyógyult

fa ssz.	kezelés, értékelés időpontja	gyógyulás éve	alkalmazott hipovirulens gombatörzs	
<b>24</b>	1999.04.20		A3xBf	nagy, bonyolult kezelés
	2000.09.27			sikeresen tűnő oltás
	2004.09.15	2004		gyógyult, bár néhány elhalt ág a koronában
<b>25</b>	1999.04.20		A3xBf	három nekrosis kezelése
	2000.09.27			jónak tűnik az oltás
	2004.09.15	2004		a fa meggyógyult
<b>26</b>	1999.04.20		A3xBf	felsőbb kezelés
	2000.09.27			jól sikerült oltás
	2004.09.15	2004		meggyógyult a fa, hipovirulens rákosodások
<b>27</b>	1999.04.20		A3xBf	felsőbb kezelés, ág eltávolítás
	2000.09.27			jól sikerült oltás
	2004.09.15	2004		meggyógyult a fa
<b>28</b>	2000.09.27		A3xBf	kéttörzsű fa, egyiken felső kezelés
	2004.09.15	2004		szép kalluszok, meggyógyult a fa
<b>29</b>	2000.09.27		A3xBf	két kezelt nekrosis, több hipovirulensnek tűnő seb
	2004.09.15	2004		szép gyógyulás
<b>30</b>	2000.09.27			ág eltávolítása, hipovirulens nekrosisok az ágakon
	2004.09.15	2004		a fa meggyógyult
<b>31</b>	2000.09.27		A3xBf	sok tősarj, kéttörzsű fa, bonyolult, felső oltások
	2004.09.15	2004		szép gyógyulás
<b>32</b>	2000.09.27		A3xBf	kezelés
	2004.09.15	2004		kalluszosodás, gyógyult

fa ssz.	kezelés, értékelés időpontja	gyógyulás éve	alkalmazott hipovirulens gombatörzs	
<b>33</b>	2000.09.27		A3xBf	többszörű, egyik eltávolítása, a többi töről erősen fertőződött, bonyolult oltás
	2004.09.15			kalluszosodás, feljebb virulens nekrosis
<b>34</b>	2000.09.27		A3xBf	szép fa, felső kezelése
	2004.09.15	2004		a fa meggyógyult
<b>35</b>	2000.09.27		A3xBf	törzset átölelő nekrosis kezelése sávban
	2004.09.15	2004		szép gyógyulás
<b>36</b>	2000.09.27		A3xBf	felső kezelés
	2004.09.15	2004		a fa meggyógyult
<b>37</b>	2000.09.27		A3xBf	törzs kezelése két oldalon
	2004.09.15	2004		meggyógyult a fa

2. melléklet Az ágfalvi kísérleti terület vázlatos térképe





### 3. melléklet A terepi felmérés eredményei

községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Ágfalva	3	A	1,9	0	0
Ágfalva	3	B	9,1	0	0
Ágfalva	3	C	1,9	1	0
Ágfalva	3	D	8,6	10	15
Ágfalva	3	E	4,5	10	15
Ágfalva	3	F	2,1	5	15
Ágfalva	3	G	8,6	5	35
Ágfalva	3	H	1,1	0	0
Ágfalva	5	A	5,3	0	0
Ágfalva	5	B	6,0	0	0
Ágfalva	5	C	7,6	0	0
Ágfalva	5	D	5,1	1	0
Ágfalva	6	A	9,8	0	0
Ágfalva	6	B	7,5	0	0
Ágfalva	6	C	6,1	0	0
Ágfalva	6	D	9,9	10	15
Ágfalva	7	A	9,5	0	0
Ágfalva	7	B	10,3	0	0
Ágfalva	7	C	2,5	0	0
Harka	1	A	13,8	1	0
Harka	1	A	13,8	0	0
Harka	1	B	13,0	1	0
Harka	2	A	7,1	0	0
Harka	2	B	5,2	1	0
Harka	2	C	10,7	1	0
Harka	3	A	12,2	1	0
Harka	3	B	3,7	2	10
Harka	3	C	4,0	1	0
Harka	3	D	7,5	1	0
Harka	3	E	7,6	1	0
Harka	4	A	2,6	0	0
Harka	4	B	4,6	1	0
Harka	4	C	5,1	0	0
Harka	4	D	5,8	0	0
Harka	4	E	0,9	0	0

községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Harka	4	F	5,5	0	0
Harka	4	G	11,5	0	0
Harka	4	H	4,3	0	0
Harka	5	A	11,0	1	0
Harka	5	B	1,8	1	0
Harka	5	C	3,9	1	0
Harka	5	D	1,9	0	0
Harka	5	E	1,1	0	0
Sopron	79	A	3,4	0	0
Sopron	79	B	2,4	0	0
Sopron	79	C	4,8	0	0
Sopron	79	D	1,0	0	0
Sopron	79	E	0,8	0	0
Sopron	79	F	0,9	0	0
Sopron	79	G	8,7	0	0
Sopron	79	G	8,7	0	0
Sopron	79	H	8,6	1	0
Sopron	79	I	1,7	20	0
Sopron	79	J	4,1	0	0
Sopron	79	K	4,9	1	0
Sopron	79	L	8,5	0	0
Sopron	79	M	8,8	1	0
Sopron	80	A	7,7	0	0
Sopron	80	B	16,9	0	0
Sopron	80	C	6,3	0	0
Sopron	80	D	4,2	0	0
Sopron	80	E	6,6	0	0
Sopron	81	A	4,1	0	0
Sopron	81	B	6,8	0	0
Sopron	81	C	7,7	0	0
Sopron	81	D	5,5	0	0
Sopron	81	E	3,7	0	0
Sopron	81	F	2,2	0	0
Sopron	82	A	0,5	1	0
Sopron	82	B	2,5	5	0
Sopron	82	C	9,0	1	0

községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	82	D	12,8	0	0
Sopron	82	E	5,3	0	0
Sopron	83	A	2,8	1	0
Sopron	83	B	14,2	1	5
Sopron	83	C	2,7	1	0
Sopron	83	D	5,7	1	0
Sopron	83	E	4,5	0	0
Sopron	84	A	19,2	1	35
Sopron	84	B	0,7	1	0
Sopron	84	D	3,1	1	35
Sopron	84	E	3,0	1	0
Sopron	84	F	7,5	1	0
Sopron	84	G	1,0	0	0
Sopron	84	H	1,2	1	15
Sopron	84	I	0,8	1	0
Sopron	85	A	1,2	1	0
Sopron	85	B	1,9	1	0
Sopron	85	C	11,1	15	25
Sopron	85	D	10,6	1	5
Sopron	85	E	1,0	1	0
Sopron	85	F	2,8	1	0
Sopron	85	G	5,9	1	0
Sopron	85	H1	1,4	0	0
Sopron	85	H2	0,8	0	0
Sopron	85	I	2,7	1	0
Sopron	85	J	4,1	1	0
Sopron	85	K	2,1	1	0
Sopron	85	L	2,7	1	0
Sopron	85	M	1,2	1	0
Sopron	85	N	2,5	0	0
Sopron	85	O	6,1	1	0
Sopron	85	P	4,0	1	15
Sopron	86	A	10,1	0	0
Sopron	86	B	17,4	1	5
Sopron	86	C	8,0	1	0
Sopron	86	D	0,4	1	0

községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	86	E	1,9	1	0
Sopron	87	A	19,0	1	0
Sopron	88	A	9,9	1	5
Sopron	88	B	3,0	0	0
Sopron	88	C	1,7	1	0
Sopron	88	D	6,3	1	0
Sopron	88	E	15,4	1	0
Sopron	89	A	3,7	0	0
Sopron	89	B	6,1	0	0
Sopron	90	A	2,1	1	0
Sopron	90	B	13,2	1	0
Sopron	90	C	0,7	0	0
Sopron	91	A	5,9	0	0
Sopron	91	B	15,7	1	0
Sopron	91	C	2,2	0	0
Sopron	92	A	16,1	1	0
Sopron	92	B	17,4	0	0
Sopron	92	C	8,2	0	0
Sopron	92	D	18,5	1	0
Sopron	92	E	12,2	1	0
Sopron	93	A	22,8	1	0
Sopron	93	B	2,5	0	0
Sopron	93	C	12,8	0	0
Sopron	94	A	10,0	0	0
Sopron	94	B	28,4	0	0
Sopron	94	C	4,4	0	0
Sopron	95	A	18,7	0	0
Sopron	96	A	13,9	1	0
Sopron	96	B	18,4	1	0
Sopron	97	A	7,6	0	0
Sopron	97	B	18,4	0	0
Sopron	97	C	0,8	0	0
Sopron	98	A	6,5	0	0
Sopron	98	B	3,7	0	0
Sopron	98	C	13,3	0	0
Sopron	98	D	7,1	0	0

községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	98	E	5,4	0	0
Sopron	98	F	9,7	0	0
Sopron	98	G	3,9	0	0
Sopron	98	H	5,3	0	0
Sopron	98	I	4,7	0	0
Sopron	98	J	4,5	0	0
Sopron	98	K	2,6	0	0
Sopron	99	A	4,1	0	0
Sopron	99	B	8,1	0	0
Sopron	99	C	6,3	0	0
Sopron	99	D	14,8	0	0
Sopron	99	E	6,0	0	0
Sopron	99	F	4,5	0	0
Sopron	100	A	3,5	1	0
Sopron	100	B	7,7	0	0
Sopron	100	C	2,4	0	0
Sopron	100	D	5,2	0	0
Sopron	100	E	7,3	0	0
Sopron	100	F	0,9	0	0
Sopron	100	G	2,0	0	0
Sopron	100	H	1,3	0	0
Sopron	100	I	1,3	0	0
Sopron	100	J	14,2	0	0
Sopron	101	A	3,6	0	0
Sopron	101	B	11,0	1	0
Sopron	101	C	7,1	0	0
Sopron	101	D	2,8	0	0
Sopron	101	E	3,8	0	0
Sopron	101	F	3,6	0	0
Sopron	101	G	6,9	0	0
Sopron	101	H	1,9	0	0
Sopron	101	I	1,0	0	0
Sopron	102	A	5,5	0	0
Sopron	102	B	6,2	0	0
Sopron	102	C	9,6	0	0
Sopron	102	D	4,4	0	0

községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	102	E	5,9	0	0
Sopron	103	A	3,4	0	0
Sopron	103	B	10,5	0	0
Sopron	103	C	8,0	0	0
Sopron	103	D	11,5	0	0
Sopron	103	F	13,5	0	0
Sopron	103	G	6,6	0	0
Sopron	104	A	5,6	0	0
Sopron	104	B	8,1	0	0
Sopron	104	C	0,7	0	0
Sopron	104	D	0,7	0	0
Sopron	104	E	10,8	0	0
Sopron	104	F	5,5	0	0
Sopron	104	H	4,9	0	0
Sopron	104	I	0,4	0	0
Sopron	104	J	3,6	0	0
Sopron	104	K	0,7	0	0
Sopron	104	L	0,6	0	0
Sopron	104	M	11,7	0	0
Sopron	104	N	8,2	1	0
Sopron	104	O	0,3	0	0
Sopron	104	P	0,8	0	0
Sopron	104	Q	2,5	0	0
Sopron	104	R	1,8	0	0
Sopron	105	A	6,7	0	0
Sopron	105	B	1,0	0	0
Sopron	105	C	1,2	0	0
Sopron	105	D	1,1	0	0
Sopron	105	E	3,5	0	0
Sopron	105	F	0,8	0	0
Sopron	105	G	0,9	0	0
Sopron	105	H	6,4	0	0
Sopron	105	I	0,6	0	0
Sopron	105	J	6,8	0	0
Sopron	105	K	3,8	0	0
Sopron	105	L	11,9	0	0

községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	105	M	3,9	0	0
Sopron	105	N	7,2	0	0
Sopron	105	O	6,8	0	0
Sopron	106	A	5,8	0	0
Sopron	106	B	4,4	0	0
Sopron	106	C	1,1	0	0
Sopron	106	D	6,6	0	0
Sopron	106	E	4,2	0	0
Sopron	106	F	7,8	0	0
Sopron	107	A	3,0	0	0
Sopron	107	B	6,7	0	0
Sopron	107	C	5,3	0	0
Sopron	107	D	7,0	0	0
Sopron	107	E	10,8	0	0
Sopron	107	F	9,7	0	0
Sopron	108	A	8,3	0	0
Sopron	108	B	10,5	0	0
Sopron	108	C	8,2	0	0
Sopron	108	D	0,8	0	0
Sopron	108	E	1,1	0	0
Sopron	108	F	1,5	0	0
Sopron	108	G	2,4	0	0
Sopron	108	H	1,1	0	0
Sopron	108	I	5,3	0	0
Sopron	109	A	4,2	0	0
Sopron	109	B	1,0	0	0
Sopron	109	C	2,5	0	0
Sopron	109	D	5,8	0	0
Sopron	109	E	0,6	0	0
Sopron	109	F	3,3	0	0
Sopron	109	G	10,3	0	0
Sopron	109	H	1,2	0	0
Sopron	109	I	1,4	0	0
Sopron	109	J	1,5	0	0
Sopron	110	A	3,4	0	0
Sopron	110	B	15,4	0	0



községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	110	C	4,9	0	0
Sopron	110	D	4,4	0	0
Sopron	110	E	1,6	0	0
Sopron	110	F	7,9	0	0
Sopron	110	G	3,3	0	0
Sopron	110	H	10,6	0	0
Sopron	110	I	1,0	0	0
Sopron	111	A	15,4	0	0
Sopron	111	B	9,3	0	0
Sopron	111	C	3,3	0	0
Sopron	111	C	3,3	0	0
Sopron	111	D	0,6	0	0
Sopron	111	E	0,5	0	0
Sopron	112	A	19,6	1	0
Sopron	112	B	10,1	1	0
Sopron	112	C	13,3	1	0
Sopron	112	D	3,3	0	0
Sopron	113	A	6,1	1	0
Sopron	113	B	4,1	1	25
Sopron	113	C	3,9	1	15
Sopron	113	D	5,3	1	0
Sopron	113	E	16,1	1	0
Sopron	113	F	13,6	1	0
Sopron	113	G	6,3	1	0
Sopron	114	A	2,4	0	0
Sopron	114	B	1,0	0	0
Sopron	114	C	14,3	1	0
Sopron	114	D	5,9	5	0
Sopron	114	E	4,9	1	0
Sopron	114	F	4,5	0	0
Sopron	114	G	1,9	0	0
Sopron	115	A	12,8	1	15
Sopron	116	A	0,3	0	0
Sopron	117	A	0,5	0	0
Sopron	118	A	7,5	1	15
Sopron	118	B	15,0	1	5

községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	119	A	5,9	2	5
Sopron	119	B	0,3	0	0
Sopron	119	C	6,8	2	5
Sopron	119	D	1,3	2	0
Sopron	120	A	9,9	0	0
Sopron	120	B	17,6	0	0
Sopron	121	A	1,4	0	0
Sopron	121	B	12,3	0	0
Sopron	121	C	1,4	0	0
Sopron	121	D	4,1	0	0
Sopron	121	E	9,6	1	0
Sopron	121	F	1,3	0	0
Sopron	121	G	1,8	0	0
Sopron	121	H	4,6	0	0
Sopron	121	I	3,9	0	0
Sopron	121	J	9,9	1	0
Sopron	121	K	2,4	1	0
Sopron	122	A	8,4	15	0
Sopron	122	B	15,2	0	0
Sopron	123	A	8,9	0	0
Sopron	123	B	3,9	5	0
Sopron	123	C	5,8	10	0
Sopron	123	D	4,1	0	0
Sopron	123	E	3,6	0	0
Sopron	123	F	1,9	0	0
Sopron	123	G	4,4	0	0
Sopron	123	H	7,1	0	0
Sopron	123	I	1,6	0	0
Sopron	123	J	9,0	0	0
Sopron	123	K	2,2	0	0
Sopron	124	A	4,9	0	0
Sopron	124	B	0,5	0	0
Sopron	124	C	2,1	0	0
Sopron	124	D	1,4	0	0
Sopron	124	E	0,5	1	0
Sopron	124	F	8,9	0	0

községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	124	G	2,7	0	0
Sopron	124	H	6,8	0	0
Sopron	125	A	15,7	0	0
Sopron	125	B	15,3	0	0
Sopron	126	A	7,4	1	0
Sopron	126	B	7,1	0	0
Sopron	126	C	7,6	0	0
Sopron	126	D	2,6	0	0
Sopron	126	E	10,1	0	0
Sopron	127	A	2,0	0	0
Sopron	127	B	2,5	0	0
Sopron	127	C	3,7	0	0
Sopron	127	C	3,7	0	0
Sopron	127	D	1,0	0	0
Sopron	127	E	3,3	0	0
Sopron	127	F	2,0	1	0
Sopron	127	G	1,9	1	0
Sopron	127	H	5,2	0	0
Sopron	127	I	5,1	0	0
Sopron	127	J	3,9	0	0
Sopron	128	A	0,9	0	0
Sopron	128	B	3,1	0	0
Sopron	128	B	3,1	0	0
Sopron	128	C	6,7	0	0
Sopron	128	D	2,4	0	0
Sopron	128	E	2,6	0	0
Sopron	128	F	5,0	0	0
Sopron	128	G	4,6	0	0
Sopron	128	H	3,1	0	0
Sopron	128	I	7,7	0	0
Sopron	128	J	2,8	0	0
Sopron	129	A	6,1	0	0
Sopron	129	B	3,2	0	0
Sopron	129	C	8,9	0	0
Sopron	129	D	1,0	0	0
Sopron	129	E	1,5	0	0

községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	129	F	3,7	0	0
Sopron	129	G	7,9	0	0
Sopron	129	H	3,7	0	0
Sopron	129	I	9,3	0	0
Sopron	130	A	7,7	1	0
Sopron	130	B	9,0	1	0
Sopron	130	C	3,3	0	0
Sopron	131	A	1,7	0	0
Sopron	131	B	0,4	0	0
Sopron	131	C	4,5	1	0
Sopron	131	D	2,2	1	0
Sopron	131	E	8,1	1	0
Sopron	131	F	3,9	0	0
Sopron	131	G	1,9	1	15
Sopron	131	H	2,5	0	0
Sopron	132	A	5,3	1	0
Sopron	132	B	14,9	1	0
Sopron	132	C	6,4	0	0
Sopron	132	D	8,8	0	0
Sopron	133	A	3,2	1	0
Sopron	133	B	5,3	1	0
Sopron	133	C	7,6	1	0
Sopron	133	D	5,5	0	0
Sopron	134	A	6,7	1	0
Sopron	134	B	15,0	1	0
Sopron	134	C	2,2	1	0
Sopron	134	D	0,7	0	0
Sopron	134	E	4,6	1	0
Sopron	134	F	1,0	0	0
Sopron	134	G	0,9	0	0
Sopron	134	H	0,4	0	0
Sopron	134	I	1,3	0	0
Sopron	135	A	6,8	0	0
Sopron	135	B	0,8	0	0
Sopron	135	C	1,2	0	0
Sopron	135	D	1,9	0	0

községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	135	E	2,6	1	0
Sopron	136	A	9,0	0	0
Sopron	136	B	6,1	0	0
Sopron	136	C	5,3	0	0
Sopron	137	A	5,8	0	0
Sopron	137	B	7,2	0	0
Sopron	137	C	4,1	0	0
Sopron	138	A	8,5	0	0
Sopron	138	B	12,3	1	0
Sopron	138	C	9,3	0	0
Sopron	138	D	9,4	1	0
Sopron	139	A	1,0	0	0
Sopron	139	B	7,3	0	0
Sopron	139	C	5,4	0	0
Sopron	140	A	3,8	0	0
Sopron	140	B	8,1	10	0
Sopron	140	B	8,1	10	0
Sopron	140	C	0,4	0	0
Sopron	140	D	6,7	0	0
Sopron	140	E	1,4	0	0
Sopron	140	F	1,5	0	0
Sopron	141	A	1,1	0	0
Sopron	141	B	0,6	0	0
Sopron	141	C	1,4	0	0
Sopron	141	D1	5,6	0	0
Sopron	141	D2	8,4	0	0
Sopron	141	E	2,5	0	0
Sopron	141	F	5,6	1	0
Sopron	141	G	3,0	0	0
Sopron	141	H	3,9	0	0
Sopron	141	I	8,4	0	0
Sopron	142	A	10,5	0	0
Sopron	142	B	7,1	0	0
Sopron	142	C	4,6	0	0
Sopron	142	D	1,7	0	0
Sopron	142	E	6,6	0	0

községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	142	F	3,9	0	0
Sopron	142	G	1,9	0	0
Sopron	142	G	1,9	0	0
Sopron	143	A	9,7	1	15
Sopron	143	B	8,4	0	0
Sopron	143	C	1,3	1	0
Sopron	144	A	5,8	0	0
Sopron	144	B	6,0	1	0
Sopron	144	C	4,7	1	0
Sopron	144	D	2,5	0	0
Sopron	145	A	4,4	1	0
Sopron	145	B	10,6	3	0
Sopron	145	C	4,8	1	0
Sopron	145	D	3,4	0	0
Sopron	146	A	5,9	0	0
Sopron	146	B	3,7	0	0
Sopron	146	C	1,6	0	0
Sopron	146	D	3,5	0	0
Sopron	146	E1	8,0	0	0
Sopron	146	E2	0,4	0	0
Sopron	146	F	1,8	0	0
Sopron	146	G	1,4	0	0
Sopron	147	A	14,2	0	0
Sopron	147	B	2,1	0	0
Sopron	147	C	5,2	2	0
Sopron	147	D	2,4	1	0
Sopron	148	A	0,5	0	0
Sopron	148	B	2,0	0	0
Sopron	148	C	4,0	0	0
Sopron	148	D	7,6	0	0
Sopron	148	E	4,4	0	0
Sopron	149	A	6,1	1	0
Sopron	149	B	3,5	1	0
Sopron	149	C	1,1	1	0
Sopron	149	D	4,3	1	0
Sopron	150	A	8,7	0	0

községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	150	B	14,4	1	0
Sopron	150	C	6,8	0	0
Sopron	151	A	4,1	0	0
Sopron	151	B	1,3	0	0
Sopron	151	C	4,7	0	0
Sopron	151	D	6,7	0	0
Sopron	152	A	7,9	0	0
Sopron	152	B	7,0	0	0
Sopron	152	C	5,2	0	0
Sopron	152	D	1,2	0	0
Sopron	153	A	3,6	0	0
Sopron	153	B	6,8	0	0
Sopron	153	C	10,1	0	0
Sopron	154	A	9,5	1	0
Sopron	154	B	5,3	0	0
Sopron	155	A	0,4	0	0
Sopron	155	B1	1,5	0	0
Sopron	155	B2	3,0	0	0
Sopron	155	C	1,4	0	0
Sopron	155	D	2,4	0	0
Sopron	155	E	3,6	0	0
Sopron	156	A	1,0	1	0
Sopron	156	B	2,8	1	0
Sopron	156	C	4,0	0	0
Sopron	156	D	1,8	0	0
Sopron	156	E	0,6	0	0
Sopron	156	F	8,0	1	0
Sopron	156	G	1,4	0	0
Sopron	156	H	2,4	0	0
Sopron	157	A	7,7	0	0
Sopron	157	B	5,2	0	0
Sopron	157	C	1,4	0	0
Sopron	157	D	6,7	0	0
Sopron	157	E	0,8	1	0
Sopron	158	A	0,4	0	0
Sopron	158	B	5,8	0	0



községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	158	C	1,1	0	0
Sopron	158	D	7,7	1	0
Sopron	158	E	5,4	0	0
Sopron	158	F	5,2	0	0
Sopron	158	G	1,6	0	0
Sopron	158	H	7,9	0	0
Sopron	158	I	6,0	0	0
Sopron	159	A	14,9	0	0
Sopron	159	B	8,0	0	0
Sopron	159	C	6,3	0	0
Sopron	159	D	8,0	0	0
Sopron	159	E	6,2	1	0
Sopron	159	F	5,6	0	0
Sopron	160	A	5,2	0	0
Sopron	160	B	7,1	0	0
Sopron	160	C	15,9	0	0
Sopron	160	D	9,8	0	0
Sopron	161	A	9,6	0	0
Sopron	161	B	2,8	0	0
Sopron	162	A	6,3	0	0
Sopron	162	B	4,1	0	0
Sopron	162	C	2,0	0	0
Sopron	163	A	7,9	0	0
Sopron	163	B	10,6	0	0
Sopron	163	C	2,7	0	0
Sopron	163	D	5,1	1	0
Sopron	163	E	3,3	0	0
Sopron	163	F	7,1	0	0
Sopron	163	G	3,2	0	0
Sopron	164	A	6,6	1	0
Sopron	164	B	0,5	1	0
Sopron	164	C	7,4	1	0
Sopron	164	D	3,2	0	0
Sopron	164	E	5,9	1	0
Sopron	165	A	16,7	1	0
Sopron	166	A	2,2	0	0

községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	166	B	8,1	1	0
Sopron	166	C	8,9	0	0
Sopron	166	D	1,1	1	0
Sopron	167	A	1,2	0	0
Sopron	167	B	1,5	0	0
Sopron	167	C	3,3	0	0
Sopron	167	D	4,8	0	0
Sopron	167	E	7,3	0	0
Sopron	167	F	7,5	0	0
Sopron	167	G	3,9	0	0
Sopron	168	A	2,3	0	0
Sopron	168	B	4,0	0	0
Sopron	168	C	8,4	0	0
Sopron	168	D	2,7	0	0
Sopron	169	A	7,3	0	0
Sopron	169	B	5,9	0	0
Sopron	169	C	8,0	0	0
Sopron	169	D	3,5	0	0
Sopron	169	E	0,9	0	0
Sopron	169	F	4,5	1	0
Sopron	170	A	9,6	0	0
Sopron	170	B	0,4	0	0
Sopron	170	C	1,7	0	0
Sopron	170	D	4,8	0	0
Sopron	171	A	2,3	0	0
Sopron	171	B	3,4	0	0
Sopron	171	C	2,7	0	0
Sopron	171	D	2,7	0	0
Sopron	171	E	1,7	0	0
Sopron	171	F	2,1	1	0
Sopron	171	G	1,9	1	0
Sopron	171	H	3,9	1	0
Sopron	171	I	3,8	1	0
Sopron	171	J	4,2	0	0
Sopron	172	A	2,3	1	0
Sopron	172	B	12,1	0	0

községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	172	C	1,4	0	0
Sopron	172	D	6,2	1	0
Sopron	172	E	1,9	0	0
Sopron	173	A	10,1	1	0
Sopron	173	A	10,1	1	0
Sopron	173	B	7,1	0	0
Sopron	174	A	5,4	0	0
Sopron	174	B	7,6	0	0
Sopron	174	C1	2,4	0	0
Sopron	174	C2	0,7	0	0
Sopron	174	C3	3,5	0	0
Sopron	175	A	3,6	0	0
Sopron	175	B	4,9	0	0
Sopron	175	C	5,7	0	0
Sopron	175	D	16,2	0	0
Sopron	175	E	1,7	0	0
Sopron	176	A	9,6	0	0
Sopron	176	B	1,0	0	0
Sopron	177	A	1,6	0	0
Sopron	177	B	9,5	0	0
Sopron	177	C	1,5	0	0
Sopron	177	D	1,8		0
Sopron	177	E	7,0	0	0
Sopron	177	F	1,8	0	0
Sopron	177	G	0,7	0	0
Sopron	178	A	14,1	0	0
Sopron	178	B	3,5	0	0
Sopron	179	A	7,6	0	0
Sopron	179	B	8,6	0	0
Sopron	179	C	2,9	0	0
Sopron	179	D	3,2	0	0
Sopron	180	A	5,3	0	0
Sopron	180	B	3,9	0	0
Sopron	180	C	2,9	0	0
Sopron	180	D	2,4	0	0

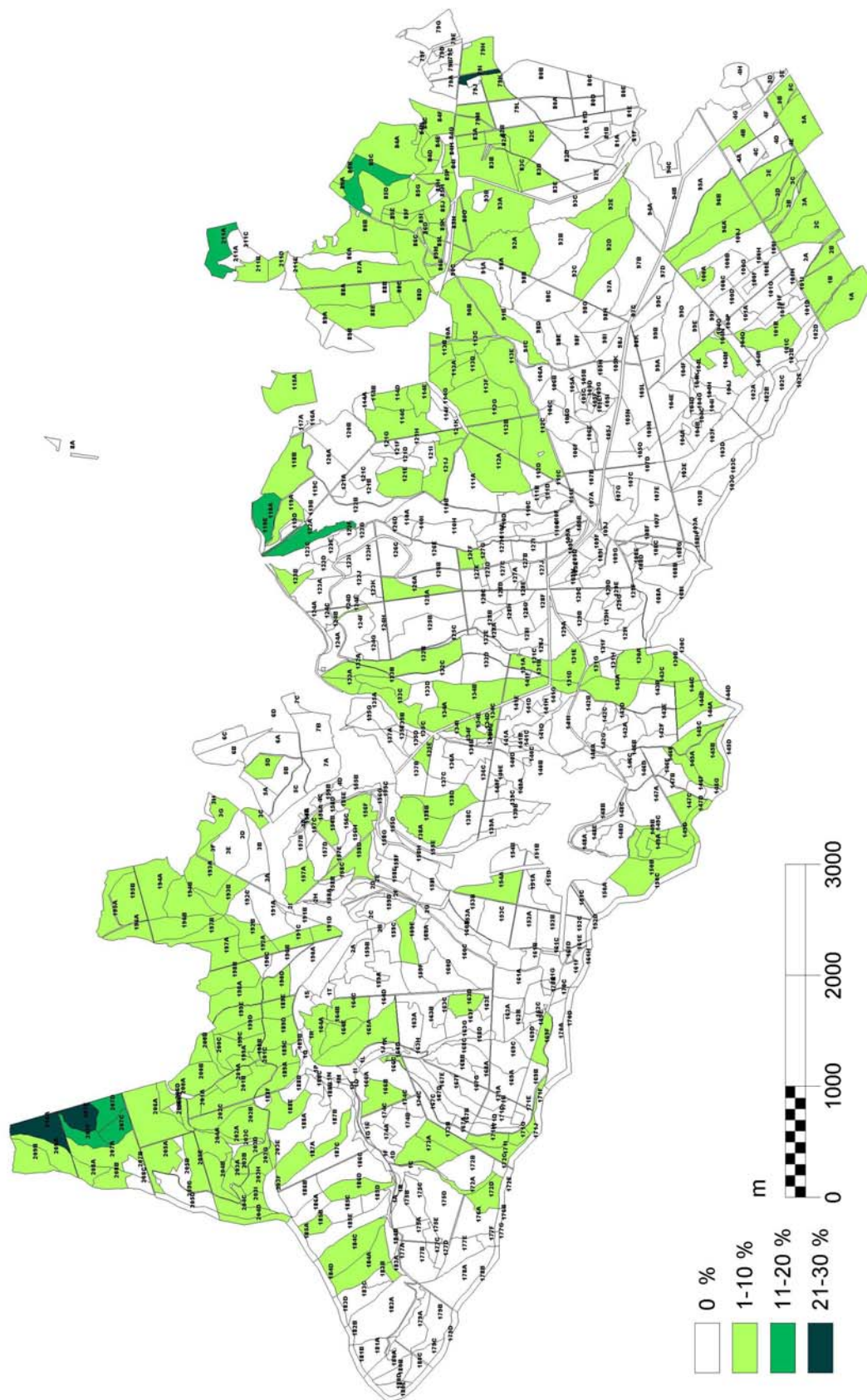
községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	180	E	4,1	0	0
Sopron	181	A	6,6	0	0
Sopron	181	A	6,6	0	0
Sopron	181	B	1,5	0	0
Sopron	182	A	23,1	0	0
Sopron	182	A	23,1	0	0
Sopron	182	B	0,9	0	0
Sopron	183	A	1,4	1	0
Sopron	183	B	2,4	0	0
Sopron	183	C	7,7	0	0
Sopron	183	D	1,4	0	0
Sopron	184	A	11,8	1	0
Sopron	184	B	2,7	0	0
Sopron	184	C	14,1	1	0
Sopron	184	D	1,7	0	0
Sopron	185	A	2,2	0	0
Sopron	185	B	3,6	1	0
Sopron	185	C	6,1	0	0
Sopron	185	D	3,1	0	0
Sopron	185	E	11,2	0	0
Sopron	186	A	5,0	0	0
Sopron	186	B	7,4	0	0
Sopron	186	C	12,4	0	0
Sopron	186	D	7,6	1	0
Sopron	187	A	11,7	1	0
Sopron	187	B	10,2	0	0
Sopron	187	C	11,0	0	0
Sopron	188	A	13,2	0	0
Sopron	188	B	0,9	0	0
Sopron	188	C	2,3	0	0
Sopron	188	D	3,7	0	0
Sopron	188	E	8,1	1	0
Sopron	188	F	1,4	0	0
Sopron	189	A	5,3	1	0
Sopron	189	B	0,6	0	0
Sopron	189	C	4,6	2	0

községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	189	D	7,3	1	0
Sopron	189	E	5,1	1	0
Sopron	190	A	9,1	0	0
Sopron	190	B	4,5	0	0
Sopron	190	C	2,2	0	0
Sopron	190	D	5,4	1	0
Sopron	191	A	10,9	0	0
Sopron	191	B	3,0	0	0
Sopron	191	C	4,6	1	5
Sopron	191	D	3,1	1	0
Sopron	192	A	3,7	5	5
Sopron	192	B	5,4	1	0
Sopron	192	C	5,4	0	0
Sopron	193	A	9,3	2	15
Sopron	193	B	6,7	1	0
Sopron	194	A	13,6	1	0
Sopron	194	B	10,3	1	0
Sopron	195	A	7,3	2	0
Sopron	195	B	10,8	1	0
Sopron	196	A	4,3	2	0
Sopron	196	B	9,9	1	0
Sopron	197	A	8,0	1	5
Sopron	197	B	7,2	3	0
Sopron	198	A	8,5	1	0
Sopron	198	B	10,7	1	0
Sopron	199	A	2,2	1	0
Sopron	199	B	0,9	1	0
Sopron	199	C	7,2	1	0
Sopron	199	D	4,3	2	0
Sopron	199	E	7,5	1	0
Sopron	200	A	1,0	10	0
Sopron	200	B1	9,7	1	0
Sopron	200	B2	3,0	3	0
Sopron	200	C	3,0	3	0
Sopron	201	A1	2,8	1	0
Sopron	201	A2	3,6	3	0

községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	201	B	11,9	3	0
Sopron	201	C	0,4	0	0
Sopron	202	A	2,2	1	0
Sopron	202	B	10,7	1	0
Sopron	202	C	5,6	1	0
Sopron	203	A	3,1	2	0
Sopron	203	B	1,2	1	0
Sopron	203	C	1,4	0	0
Sopron	203	D	3,8	3	0
Sopron	203	E	1,1	1	0
Sopron	203	F	5,0	0	0
Sopron	203	G	3,4	1	0
Sopron	203	H	3,2	1	0
Sopron	203	I	3,6	1	0
Sopron	204	A	5,5	1	0
Sopron	204	B	7,0	2	0
Sopron	204	C	5,6	1	0
Sopron	204	D	3,4	1	0
Sopron	205	A	9,4	1	0
Sopron	205	B	4,1	0	0
Sopron	205	C	7,9	0	0
Sopron	205	D	3,2	0	0
Sopron	205	E	7,3	1	0
Sopron	206	A	18,1	1	0
Sopron	206	B	1,0	1	0
Sopron	206	C	0,6	0	0
Sopron	206	D	4,9	1	0
Sopron	207	A	12,6	4	0
Sopron	207	B	3,1	0	0
Sopron	207	C	5,4	11	5
Sopron	207	D	6,2	16	5
Sopron	207	E	6,5	21	0
Sopron	207	F	4,8	14	0
Sopron	208	A	3,6	1	0
Sopron	208	B	4,6	1	0
Sopron	208	C	2,6	0	0

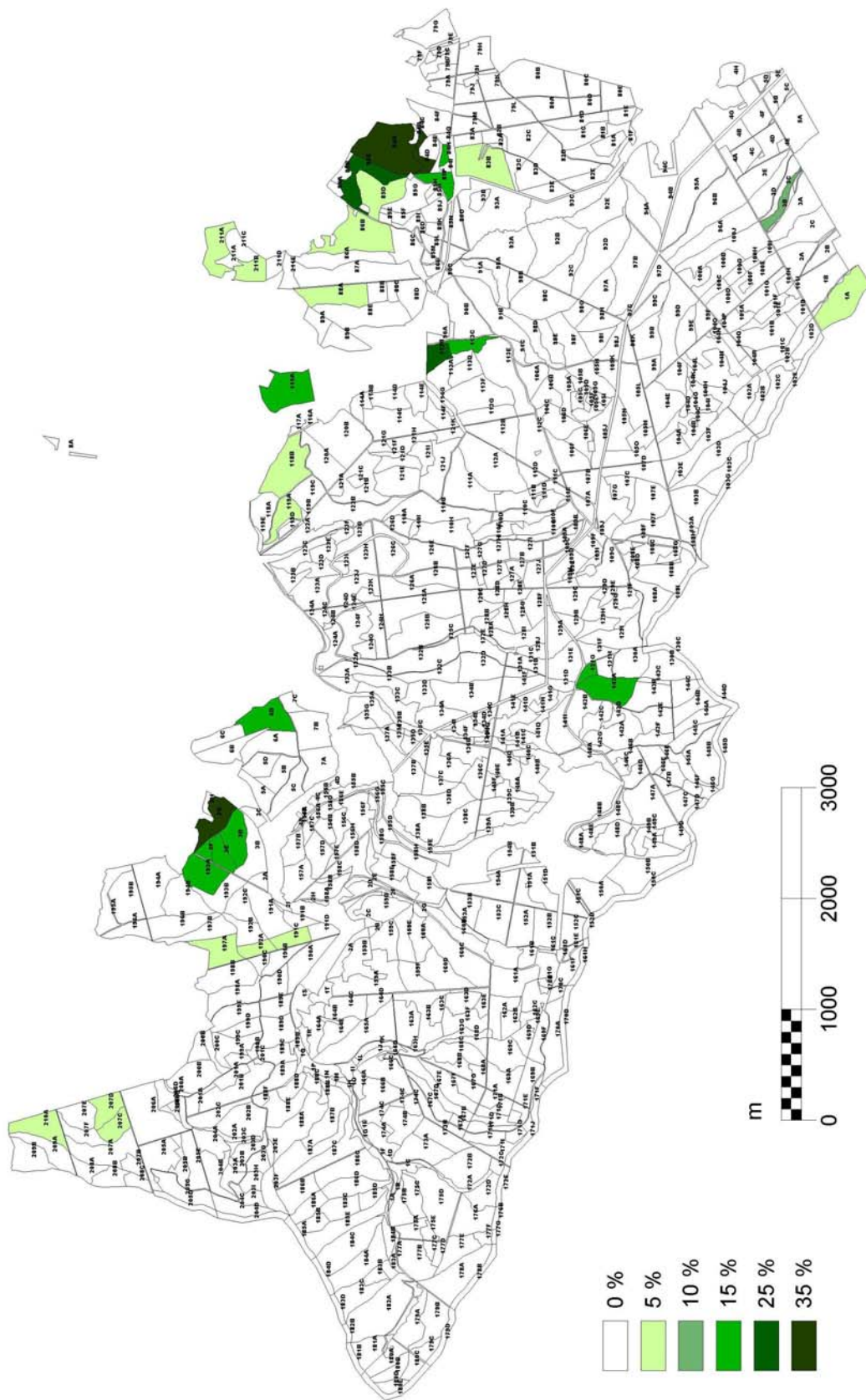
községhatár	tag	részlet	terület (ha)	szelídgesztenye elegyaránya (%)	fertőzöttség (%)
Sopron	209	A	7,5	4	0
Sopron	209	B	8,2	6	0
Sopron	210	A	9,3	20	5
Sopron	211	A	10,4	0	0
Sopron	211	B	5,0	1	5
Sopron	211	C	4,8	0	0
Sopron	211	D	2,8	1	0
Sopron	211	E	3,9	0	0

4. melléklet



A szelidgesztenye elterjedése a Soproni-hegységben





A szelídgesztenye *C. parviticus* - fertőzöttsége a Soproni-hegységben