



Doktori (PhD) értekezés tézisei

**KÖRTEFAJTÁK TŰZELHALÁSSAL SZEMBENI
ELLENÁLLÓSÁGA ÉS A BETEGSÉG FOLYAMATÁNAK
JELLEMZÉSE NÉHÁNY BIOKÉMIAI PARAMÉTER
VIZSGÁLATÁVAL**

Honty Krisztina

Témavezető: Göndör Józsefné dr., CSc

Társkonzulens: Dr. Hevesi Mária, CSc

Budapesti Corvinus Egyetem
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

Budapest
2010

A doktori iskola megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola

tudományága: Növénytermesztési és Kertészeti Tudományok

vezetője: Dr. Tóth Magdolna
egyetemi tanár, DSc
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

Témavezető: Göndör Józsefné dr.
ny. tudományos főmunkatárs, CSc
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

Társ konzulens: Hevesi Lászlóné dr.
ny. tudományos főmunkatárs, CSc
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, azért az értekezés védési eljárásra bocsátható.

.....
Dr. Tóth Magdolna
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
Göndör Józsefné dr.
A témavezető jóváhagyása

1. BEVEZETÉS

Magyarországon a 80-as évek 100 ezer tonnát meghaladó körtetermése az utóbbi években 30-40 ezer tonnára csökkent, illetve néhány évben még ezt a mennyiséget sem érte el. Az 1996-ban jelentkező tűzelhalás okozta nagy ültetvénykivágások miatt az üzemi termőfelület szintén jelentősen csökkent. Bár ezt követően a termőterület növekedni kezdett, de az országos termés a hazai lakosság fogyasztási igényeinek kielégítésére sem elegendő. A körteimport aránya indokolatlanul nagy ütemben növekedett az elmúlt években, miközben a hazai árukínálat nem növekszik.

Az *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. az egész világon óriási problémát jelent. A tűzelhalás a legnehezebben leküzdhető betegségek közé tartozik, az ellene való védekezés a mai napig nem megoldott. A növényvédőszeres védekezésre alkalmas készítmények köre szűk, és ezek közül is a leghatásosabbnak ítélt sztreptomycin használatát az Európai Unió humánegészségügyi okok miatt tiltja. A betegség leküzdésében az elmúlt években előtérbe kerültek az alternatív és biológiai védekezési módszerek. Emellett a védekezés egyik költségkímélő lehetőségét az ellenálló fajták alkalmazásától várhatjuk. Mindenképp szükséges lenne a világszerte indokolatlanul leszűkült fajtahasználat megújítása.

Több irodalomban találhatunk adatokat a fajták *Erwinia amylovora*-val szembeni ellenállóságáról, de ezek nem biztos, hogy hazai viszonyok között is megállják a helyüket. Ennek okai az eltérő ökológiai körülmények és az eltérő baktériumtörzsek lehetnek.

A fentiek tükrében célul tűztük ki a körtefajták fogékonysági fokozatainak meghatározását. E baktérium hazánkban karantén kórokozó, ezért szabadföldi teszteléseket végezni nem lehetséges. A kísérletek a Budapesti Corvinus Egyetem, Gyümölcstermő Növények Tanszékének akkreditált *Erwinia*-laboratóriumában 2001 és 2006 között folytak.

A kórokozóval történő fertőződés hatására a növényekben reaktív oxigén gyökök képeződnek, melyeket az antioxidáns enzimek, illetve fenolok és nem enzimikus védő vegyületek hatástalanítanak. A biotikus stressz hatására az enzimek és egyéb anyagcseretermékek pl. fenolok változásáról a szakirodalom eltérő eredményeket közöl. Ezért fontos feladatnak tűnt a fertőzés hatására létrejövő gazdaválasz nyomon követése biokémiai markerekkel. Az ezzel kapcsolatos kísérleteket a Genetika és Növénynevelés Tanszéken, valamint az Alkalmazott Kémia Tanszéken végeztük.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Egy adott fajta fogékonysága/rezisztenciája részben a látható betegségi tünetek kialakulásával, annak gyorsaságával és erősségével, részben a növény szövetében lezajló, a fertőzés hatására lejátszódó változásokkal jellemezhető. E folyamatok fontos eleme a szövetbe bejuttatott baktérium szaporodásának mértéke, valamint a növény részéről kialakuló, védekezéssel kapcsolatos biokémiai változások.

Ennek függvényében a kutatás során célul tűztük ki:

- a virágok, hajtások és gyümölcsök laboratóriumi fertőzésével meghatározni a természetben lévő főbb árufajták, a választékbővítő fajták és néhány japán körtefajta fogékonysági fokozatait, összehasonlítva a szakirodalom alapján rezisztensnek tartott fajtákkal;
- a fenti cél megvalósítása érdekében a legalkalmasabb inokulációs és vizsgálati módszerek kidolgozását az egyes növényi szervekre (virág, hajtás és gyümölcs);
- megállapítani, hogy a körtefajták fogékonysága/rezisztenciája mely növényi szerv fogékonyságának mértéke alapján jellemezhető legjobban;
- a fertőzött növényi részekben a fogékony és rezisztens gazdaválasz nyomon követését biokémiai paraméterek (antioxidáns enzimek, összes polifenoltartalom és szénhidrátfrakciók) mennyiségi változásának meghatározásával;
- megállapítani, hogy az általunk vizsgált biokémiai változások közül melyik a legalkalmasabb a rezisztencia markerezésére.

3. A KÍSÉRLET ANYAGA ÉS MÓDSZERE

A fertőzésekhez felhasznált anyagok

Baktériumtörzsek

Hazai *Erwinia amylovora* izolátumok virulenciájának értékelése után egy sarkadi (Ea 21) és egy nagykanizsai (Ea 23) körtéről származó, erőteljes virulenciát mutató izolátumot választottunk ki a vizsgálatokhoz, melyet keverékben alkalmaztunk.

Körtefajták

A kísérletben a jelenleg természetben lévő fő fajták, régi körtefajták, állami elismerés előtt álló fajták, rezisztens fajták és japánkörte fajták tüzelhalás fogékonyságát vizsgáltuk. A vizsgálatokba mintegy 40 fajtát vonunk be. A kísérleti növényanyag (virág, hajtás és gyümölcs) a Budapesti Corvinus Egyetem Kertészettudományi Kar Kísérleti Üzemének és Tangazdaságának génbanki fajtagyűjteményéből (Szigetcsépről), illetve a Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal Fajtakísérleti Állomásáról (Pölöskéről) származott. A mikroszaporított növényeket az Érdi Gyümölcs- és Dísznövénykutató és Fejlesztő Kht. állította elő.

A fertőzések vizsgálati módszerei

A fertőzési módszereket vagy az irodalomban közöltekből vettük át (van der Zwet és Keil, 1979), részben azokat módosítottuk (Hevesi et al., 2000), vagy önállóan fejlesztettük ki. A fertőzéseket oltványok hajtásain, ültetvényből begyűjtött virágokon, éretlen gyümölcsökön, illetve mikroszaporított növényeken végeztük 2001 és 2006 között.

A **virágfertőzéshez** 2 módszert hasonlítottunk össze: a hajtattott termővesszők virágzatait baktérium szuszpenzió permetezésével (5×10^8 sejt/ml) fertőztük (50 virág/fajta). Majd a későbbiekben, az általunk kifejlesztett kapilláris technika lehetővé tette a virágok egyedi fertőzését, ahol a bibéket a baktérium szuszpenzióba (5×10^8 sejt/ml) mártott kapilláris csővel inokuláltuk (20 virág/fajta).

Az oltványok 20-30 cm-es, még nem fásodott **hajtásait** (8 hajtás/fajta) injekciós tűvel fertőztük, a csúcstól számolt harmadik teljesen kifejlődött levél hónaljában.

Az **éretlen gyümölcsöket** (2-2,5 cm \varnothing) megszártunk baktérium szuszpenzióba (5×10^8 sejt/ml) mártott lándzsatűvel (10 gyümölcs/fajta).

A **mikroszaporított növények** fertőzése *E. a.* szuszpenzióba (5×10^8 sejt/ml) mártott ollóval, az alsó levelek bevágásával történt.

Valamennyi fertőzött növényi részt párásított körülmények között, 25°C körüli hőmérsékleten tartottuk.

Biokémiai vizsgálatok anyaga

A vizsgálatokat éretlen körtegyümölcsökön, oltványok levelein és hajtásain, valamint mikro-szaporított növényeken végeztük.

A **gyümölcsök** szénhidrát-tartalom- és az összes polifenoltartalom meghatározáshoz egy rezisztens típusú ('Pap körte') és egy fogékony fajta ('Piros Vilmos') éretlen gyümölcsseit-, az enzimaktivitás meghatározásokhoz a fent említett két fajtán kívül egy mérsékelt rezisztens japán körtét ('Hosui') is használtuk.

A gyümölcs szövetéből (1 cm \varnothing) mintát vettünk az inokuláció helyén (a), az inokulációtól 1 cm-re (b) és 2 cm-re (c). A vizsgálatokat 0-72. óra (2003-2004)-, illetve 0-168. óra (2005) között végeztük.

A **hajtásokok és levelek** vizsgálatánál konténeres oltványokban (tűzelhalás rezisztens: 'Kieffer', fogékony: 'Packham's Triumph') mértük a peroxidáz (POD) enzimaktivitást, a szénhidrát frakciók- és az összes polifenoltartalom változását.

A hajtásban végbemenő változásokat (2003-ban) a fertőzés utáni 1., 5., (fogékony és rezisztens) és 14. napon (csak a rezisztens fajtánál)-, illetve a következőkben (2007-ben) a biotikus stresszre bekövetkező változásokat a 0-48. óra közötti intervallumban a csúcsi levelekben (L_1), a fertőzési pont feletti levelekben (L_2), a fertőzési pont alatti levelekben (L_3) és az inokulációs pont alatti és feletti 3-3 cm-es hajtásdarabban (H) vizsgáltuk. A mikroszaporított növények biokémiai vizsgálatához pedig a fertőzést követő 2., 4., és 6. napon (2005) valamint 1., 4., 6., 8., és 12. napon (2006) történt a mintavétel.

Biokémiai vizsgálatok módszerei

Az **enzimaktivitás** meghatározásokat a Budapesti Corvinus Egyetem, Alkalmazott Kémia Tanszékén végeztük. A peroxidáz enzim aktivitását H_2O_2 szubsztrát és ortodianidizin kromogén reagens jelenlétében ($\epsilon = 11.3$), $\lambda = 460$ nm-en mértük (Shannon et al., 1996). A polifenoloxidáz enzim aktivitását katekol segítségével $\lambda = 420$ nm-en határoztuk meg spektrofotometriás úton (Jen és Kahler, 1974).

Az összes **polifenoltartalmat** spektrofotometriás úton $\lambda = 720$ nm-en Folin-Ciocalteu reagenssel határoztuk meg (Singleton és Rossi, 1965) az Alkalmazott Kémia Tanszékén.

A mintákban levő **szénhidrát** vegyületek kromatográfiás meghatározása túlnyomósos rétegekromatográfiás műszerrel (OPLC, 2003-2004) történt a Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar, Genetika és Növénynevelés Tanszékén (Sárdi et al., 1996). A HPLC-vel (High Pressure Liquid Chromatography) történő cukor-meghatározást a Gyümölcsstermő Növények Tanszékén végeztük (2005, 2007).

A kísérletek értékelése

A **virágszervek** fertőzöttségének értékelése a fertőzést követő 4. napon történt.

A termőgallyak permetezésénél a betegség előrehaladtáról a vacok, a csészelevelek, a szíromlevelek, a porzók és a bibe barnulása adott információt. Az virágszervek értékelésénél a betegség mértékét a $B_v = (n_b/n) \times 100$ képlettel számoltuk (B_v : a betegség mértéke a virágon, n_b : a beteg virágszerv száma, n : az összes virágszerv száma)

A kapillaris technikánál a betegség mértékét a virágokon $B_v = \sum f_i \times n_i/n$ képlettel számoltuk (B_v : a betegség mértéke a virágszerveken, f_i : a fertőzési index, n_i : a fertőzési indexhez tartozó gyakoriság, n : a fajtán belül vizsgált összes növényi rész) a virágszerveken jelentkező tünetek erőssége alapján egy 0-3 fokozatú skála (fertőzési index) segítségével (0 – tünetmentes, 3 – 100%-ig barnult szerv).

A virágszervek fertőződésének összesített értékelése alapján négy fogékonysági csoportot különítettünk el: 0 – 0,75 (0 - 25%): mérsékelten rezisztens, 0,76 – 1,5 (26 - 50%): közepesen fogékony, 1,51 – 2,25 (51 - 75%): nagyon fogékony, 2,26 – 3 (76 - 100%): igen erősen fogékony (EF)

A **hajtások** fogékonyságának értékelését a fertőzés után egy héttel kezdtük meg, majd négynaponta összesen négyszer végeztük. Megmértük a fertőzött hajtásrész hosszúságát (cm), s így rögzítettük a kórfolyamat terjedését. Meghatároztuk

- ❖ a nekrózis %-át a $N (\%) = (\text{nekrózis hossza}/\text{fertőzött hajtás hossza}) \times 100$
- ❖ a betegség mértékét a hajtásokon a levelek, levélerek és a hajtás barnultságának és a hajtáscsúcs hervadásának mértéke alapján egy 0-5 fokozatú skála (fertőzési index) segítségével (0: a fertőzés helye beszáradt, nem terjedt tovább; 5: teljes elbarnulás az egész hajtáson) számoltuk: $B_h = \sum f_i \times n_i / n$ (B_h : a betegség mértéke a hajtáson, f_i : a fertőzési index, n_i : a fertőződési indexhez tartozó gyakoriság, n : a fajtán belül vizsgált összes hajtás, Horsfall és Barratt, 1945; Bertrand és Gottwald, 1978). Négy fogékonysági csoportba soroltuk a fajtákat: 0 – 1,25: mérsékelten rezisztens, 1,26 – 2,5: közepesen fogékony, 2,51 – 3,75: nagyon fogékony, 3,76 – 5: igen erősen fogékony.
- ❖ a baktérium szaporodásának mértékét a fertőzött növényi szövetben történő vizsgálatához egy cm-es hajtásdarabot használtuk fel, mely alapján a vizsgált növényeket a következő csoportokba soroltuk: 0– 10^5 baktériumsejt/1cm: mérsékelten rezisztens, $10^5 + 1$ – 10^6 baktériumsejt/1cm: közepesen fogékony, $10^6 + 1$ – 10^7 baktériumsejt/1cm: nagyon fogékony, 10^7 felett igen erősen fogékony

Az **éretlen gyümölcsök** fogékonyságának értékelése négy nappal történt az inokulációt követően. Kétféle tünettípust vizsgáltunk; a szúrás körül kialakult tünetet mutató rész átmérője és jellege alapján kategorizáltunk, a keletkezett baktériumnyálka-csepp átmérőjét is figyelembe véve. Ezek alapján számoltuk a betegség mértékét: $B_{gy} = \sum f_i \times n_i / n$, és osztottuk a hajtásnál már említett hat kategóriába a fajtákat.

A **statisztikai értékeléshez** a csészelevelek, a vacok, a hajtások és az éretlen gyümölcsök fertőzöttségi adatai alapján Hierarchikus Cluster-analízist végeztünk az SPSS 14.0 program segítségével. Az értékelést elvégeztük növényi részenként éves lebontásban és az összes növényi részre együttesen. Az eredményeket dendrogramon ábráztuk.

4. EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

A körtefajták tűzelhalás fogékonysága

A **virágfertőzés** eredményeinél megállapítottuk, hogy a virágzat fogékonysága, illetve ellenálló képessége az egyik legfontosabb értékmérője a fajtának, hiszen a fertőzések a virágzáskor következnek be. A kísérlet indításakor (2001-ben) a termőgallyakon levő virágzatokat *E. amylovora* szuszpenzió permetezésével fertőztük. Ez a fertőzési módszer nem volt még elég kifinomult, túl sok baktérium szuszpenzió került a virágzatokra, a szíromlevelek hamar elbarnultak, majd lehullottak, a virágszerveken található tünetek egybemosódtak, ezért értékelésük nehéz volt.

A kapilláris technika bevezetésével meghatározott mennyiségű (20 µl/virág) baktérium szuszpenzió került a bibékre, mely fertőzési mód jobban hasonlít a természetben lejátszódó spontán fertőződéshez. E fertőzési móddal a virágok fertőzöttségét pontosan lehetett értékelni. Tapasztalatunk alapján a fajtákat leginkább a vacok és a csészelevelek fogékonysága jellemzi, hiszen a kórokozó mélyebbre hatolásával válik lehetségessé a hajtásfertőződés, ezért e két szerv fogékonysága alapján csoportosítottuk a fajtákat.

A körtefajták virágfertőzését követően teljesen ellenálló virágokat ritkán lehet találni. Kísérletünk alapján a 'Hosui', az 'Avranchesi jó Lujza', az 'Erdei vajkörte' és a 'Kieffer' virágai voltak mérsékelten rezisztensek a tűzelhalás fertőzést követően. Közepesen fogékonyak voltak pedig a 'Bohusné vajkörte', a 'Bronzovaja', a 'Clapp kedveltje', a 'Harrow Delight', az 'Ilonka', a 'Nijisseiki', a 'Piros Vilmos', a 'Star' és a 'Vilmos' virágai.

A fajták fogékonyságának második legfontosabb értékmérője a **hajtások** viselkedése a baktériumos fertőződésre. A betegség tünetei – betegség mértéke a hajtáson (B_h) – alapján a 'Harrow Delight', a 'Harrow Sweet', a 'Kieffer', a 'Moonglow' és az 'US 65062-13' fajták

voltak mérésenként rezisztensek a fertőzésre. Közepesen fogékonyak pedig az 'Avranches-i jó Lujza', a 'Bohusné vajkörte', a 'Cascade', a 'Clapp kedveltje', a 'Giffard vajkörte', a 'Magness' és a 'Star' fajtákat találtuk. A vizsgált fajták nagyobbik része (71%-a) pedig nagyon, illetve igen erősen fogékony volt a tűzelhalás betegséggel szemben a hajtásfertőződés alapján, ebbe beletartoztak a főbb árufajtáink is. Hasonló megállapítást tapasztaltunk a mikroszaporított növények fertőzése során, példának említhető az igen erősen fogékony 'Packham's Triumph' és a 'Tongre'.

A **fajták tűzelhalás fogékonyosságának** jellemzéséhez szükség van a virágok és a hajtások fogékonyosságának együttes értékelésére (1. táblázat). Ez alapján kiemelnénk a 'Kieffer' fajtát, mely mindkét szerv fogékonyasága szerint mérsékelten rezisztens volt. Ez a fajta gyenge beltartalmi értéke miatt, mint génforrás szerepelhet a rezisztencia nemesítésben. Az 'Avranches-i jó Lujza' a virágok fogékonyasága alapján mérsékelten fogékony, és a hajtásfertőzés szerint közepesen fogékony; a 'Harrow Delight' pedig a hajtásfertőzés alapján mérsékelten rezisztens és a virágok fogékonyaságának adatai szerint közepesen fogékony. A többi fajtánál gyengébb tűzelhalás fogékonyasága alapján kitűnik még a 'Star', a 'Clapp kedveltje' és a magyar származású 'Bohusné vajkörte', melyek inokulációs kísérletünk szerint a két szerv alapján csupán közepesen voltak fogékonyak a tűzelhalás fertőzésre.

Megállapítottuk, hogy több fajtánál nem esett egybe a virágok és hajtások fogékonyasága, néhány fajtánál teljesen ellentétes tendenciát mutatott e két szerv fertőződése. A hajtások fogékonyasága alapján mérsékelten rezisztens 'Moonglow', 'Harrow Sweet' és 'US 65062-13' a virágszervek inokulálása után igen erős fogékonyaságot mutattak, a virágfertőzést követően mérsékelten rezisztens 'Hosui' és 'Erdei vajkörte' pedig a hajtásfertőzést követően voltak nagyon, illetve igen erősen fogékonyak a tűzelhalás fertőzésre.

1. táblázat. Körtefajták relatív tűzelhalás fogékonyasága a hajtás- és virágfertőzés alapján (2001-2005)

Hajtás ↓

| | | | | |
|----|----------------------|---|---|--|
| EF | Erdei vajkörte | Bronzovaja | Bosc kobak Eldorado Tongre | Baki Bosc, Conference Fertilia Delbard, Hardenpont téli vajkörte, Packham's Triumph, Pap körte, Porporata |
| NF | Hosui HP25 | Ilonka Nijissejiki Vilmos | Harvest Queen NP41 | Dr. Guyot Gyula Mosoly |
| KF | Avranches-i jó Lujza | Bohusné vajkörte Clapp kedveltje Star | Giffard vajkörte Magness Magyar kobak | Cascade |
| MR | Kieffer | Harrow Delight | | Harrow Sweet Moonglow US 65062-13 |

Virág → MR KF NF EF

MR: mérsékelten rezisztens, KF: közepesen fogékony, NF: nagyon fogékony, EF: igen erősen fogékony

A szakirodalomban az **éretlen gyümölcsök** fertőződésére kevés figyelmet fordítottak, de mivel a fertőzött gyümölcs a szállítással fertőzési forrássá válhat, ezért fogékonysága szintén a fajta értékmérő tulajdonságának tekinthető. A körtefajták közül a 'Bronzovaja', a 'Cascade', az 'Eldorado', a 'Hardenpont téli vajkörte', a 'Hosui', és hibridje (HP 25), a 'Packham's Triumph', a 'Pap körte', és a 'Tongre' fajtákat lehetett kiemelni, melyek éretlen gyümölcssei mérsékelten rezisztensek voltak a tűzelhalás fertőzésre. A vizsgált 35 fajtából 22 fajta gyümölcse közepesen vagy nagyon fogékony volt a fertőzésre.

Továbbá megállapítottuk, hogy a gyümölcsök fogékonysága nagyban eltér a gyümölcsösben tapasztalható hajtás és virágfogékonyságtól. Ezzel a megállapítással mi is egyetértünk: több fajtánál pl. 'Packham's Triumph', 'Pap körte', 'Hardenpont téli vajkörte' a laboratóriumi kísérleteink alapján a hajtások és virágok nagyon fogékonyak voltak, viszont az éretlen gyümölcsök mérsékelt rezisztenciát mutattak.

A vizsgált 3 szerv alapján a körtefajták tűzelhalással szembeni fogékonyságának megállapítása és fogékonysági csoportba sorolása több szempontból nem könnyű feladat. Egyes években a vizsgált szerv több esetben eltérő módon fertőződött. Az adott szerv egyik évben mérsékelt rezisztenciát mutatott, később pedig nagyfokú fogékonyságot. Ezt a jelenséget mások is megfigyelték (Thibault et al., 1989; Le Lezec et al., 1998). Másrészt az egyes szervek a legtöbb fajtánál eltérő módon reagáltak az inokuláció hatására.

A körtefajták különböző szerveinek tűzelhalás fogékonyságának tendenciái megegyeztek az 'Avranchesi jó Lujza', a 'Bohusné vajkörte', a 'Clapp kedveltje', a 'Harrow Delight' fajtáknál: itt a szervek csak kis-, vagy közepes fogékonyságot mutattak. Szintén megegyeztek – de minden szerv közepesen, vagy nagyon fogékony volt – a 'Harvest Queen', a 'Magness', a 'Magyar kobak', a 'Nijisseiki', a 'Star' és a 'Vilmos' esetében. Szintén megegyező, nagyon erős fogékonyságot mutatott a 'Bosc kobak', a 'Conference', a 'Dr. Guyot Gyula', a 'Fertilia Delbard' és a 'Republica'. Több fajta esetében a különböző szervek különböző mértékben fertőződnek a tűzelhalás betegség következtében, pl. a 'Cascade', az 'Erdei vajkörte', a 'Moonglow', a 'Harrow Sweet' vagy az 'US 65062-13' fajták egyes szerveinek tűzelhalás fogékonysága kísérletünkben eltérő volt. Az összesített eredmények alapján a vizsgált fajták relatív tűzelhalás fogékonyságát a 2. táblázat mutatja

2. táblázat. Körtefajták hajtásainak, virágainak és éretlen gyümölcseinek relatív tűzelhalás fogékonysága (2001-2005)

| Fajta | hajtás | virág | gyümölcs |
|--------------------------|--------|-------|----------|
| Árpával érő | | EF | |
| Avranchesi jó Lujza | KF | MR | KF |
| Baki Bosc | EF | EF | |
| Bohusné vajkörte | KF | KF | KF |
| Bosc kobak | EF | NF | NF |
| Bronzovaja | EF | KF | MR |
| Cascade | KF | EF | MR |
| Clapp kedveltje | KF | KF | KF |
| Conference | EF | EF | NF |
| Dr. Guyot Gyula | NF | EF | NF |
| Eldorado | EF | NF | MR |
| Erdei vajkörte | EF | MR | NF |
| Ferenc vérbélű | EF | | |
| Fertilia Delbard | EF | EF | EF |
| Fétel apát | EF | | |
| Giffard vajkörte | KF | NF | KF |
| Hardenpont téli vajkörte | EF | EF | MR |
| Harrow Delight | MR | KF | KF |
| Harrow Sweet | MR | EF | KF |
| Harvest Queen | NF | NF | KF |
| HW 620 | | EF | KF |
| Hosui | NF | MR | MR |
| HP12 | NF | | |
| HP25 | NF | MR | MR |
| Ilonka | NF/KF | KF | EF |
| Kieffer | MR | MR | NF |
| Magness | KF | NF | KF |
| Magyar kobak | NF/KF | NF | |
| Marik kedveltje | EF | | KF |
| Moonglow | MR | EF | KF |
| Mosoly körte | NF | EF | KF |
| Nijisseiki | NF | KF | KF |
| NP1 | EF | | |
| NP41 | NF | NF | KF |
| Orsolya | NF | | |
| Packham's Triumph | EF | EF | MR |
| Pap körte | EF | EF | MR |
| Porporata | EF | EF | |
| Piros Vilmos | | KF | EF |
| Red Sensation | EF | | |
| Republika | EF | | NF |
| Star | KF | KF | NF |
| Társulati esperes | EF | | |
| Tongre | EF | NF | KF |
| US 65062-13 | MR | EF | NF |
| Vilmos | NF | KF | NF |

MR: mérsékelten rezisztens
 KF: közepesen fogékony
 NF: nagyon fogékony
 EF: igen erősen fogékony

A biotikus stressz nyomon követése biokémiai markerekkel

Éretlen gyümölcsökben bekövetkező biokémiai változások

A baktériumos fertőzésre minden fajta enzimaktivitás emelkedéssel (**peroxidáz: POD, polifenoloxidáz: PPO**) reagált, de a fertőzés hatására a fogékony és rezisztens gazdaválasz eltérő volt. A stresszre a fogékony fajta korábban reagált POD enzimaktivitás emelkedéssel, mint a rezisztens fajta, mely eredményt más kísérletben is tapasztaltak (Torres et al., 2003). A tűzelhalásra fogékony fajtában ('Piros Vilmos') a fertőzést követő 24. (2005), illetve 48. órában (2003, 2004) az *inokulációs pontban* a POD enzimaktivitás megemelkedett, jelezve a stresszhatást, majd az idő múlásával (72., 168. óra), a tünetek kifejlődésével párhuzamosan az elpusztult szöveteknek tulajdonítható enzimaktivitás csökkenés volt detektálható. Ekkor a szabad gyökök valószínűleg olyan mennyiségben voltak jelen, hogy azt az antioxidáns védelmi rendszerével nem tudta közömbösíteni, és szövetpusztulást eredményezhetett. Az *inokulációs pont melletti szövetekben* a POD enzimaktivitás emelkedés időbeni eltolódással jelentkezett (72. óra), melynek valószínűsíthető magyarázata az, hogy az inokuláció helyén kialakult betegség tünetek hatására a szomszédos, még egészséges szövetek később reagáltak.

A rezisztens fajta ('Pap körte') az *inokulációs pontban* a fertőzésre később – csak a 48. (2005), illetve 72. órában (2003, 2004) – reagált POD enzimaktivitás emelkedésével, ami azt mutathatja, hogy számára kisebb stresszt jelentett a fertőzés. Másik valószínűsíthető magyarázat, hogy ebben az időpontban kevesebb szabad gyök volt jelen, ami beindította volna antioxidáns védelmét. Később, a 72. órától az inokulációs pontban a POD aktivitás növekedni kezdett, mutatva, hogy az antioxidáns rendszere védekezett a később kialakuló szabad gyökök ellen. A mérsékelt rezisztens ('Hosui' japán körte fajta) kontroll mintáiban mértük a legmagasabb POD aktivitást, a biotikus stresszre adott gazdaválasz pedig inkább a fogékony fajtához hasonlított, mutatva, hogy a fertőzés nagyobb stresszt jelentett számára, mint a rezisztens 'Pap körte' fajtának.

Több kísérletben bizonyították, hogy magasabb **polifenoloxidáz (PPO) aktivitás szint** kórokozókkal és kártevőkkel szembeni nagyobb ellenállósággal párosul. Kísérleteinkben a kiindulási, kontroll PPO aktivitási érték a rezisztens fajta ('Pap körte') gyümölcsében magasabb volt, mint a fogékony fajtában ('Piros Vilmos'), és a szintén fogékony 'Kieffer' fajtában a rezisztenshez hasonlóan magas értéket mértünk. A POD aktivitáshoz hasonlóan a legmagasabb értékeket a mérsékelt rezisztens 'Hosui' japán körte fajtában tapasztaltuk, tehát véleményünk szerint a kontroll szövetekben mérhető PPO aktivitás szint inkább a fajtákban genetikailag kódolt, mint a rezisztencia egyik markere, melyet Melo és munkatársai (2006) is megállapítottak.

A POD aktivitás változáshoz hasonlóan a stresszre a fogékony fajta hamarabb reagált, az inokulációs pontban már a 48. órában mértünk PPO aktivitás emelkedést, mely a későbbi időpontban tovább növekedett. A rezisztens fajtában később – a 72. órában – nőtt a PPO aktivitás, és a fogékonyhoz képest kisebb mértékű emelkedéssel reagált a biotikus stresszre.

Elsősorban a **glükóz**, de a **szacharóz** mennyiségének változása (csökkenése) is jól jellemezte a kórfolyamat lefolyását fogékony és rezisztens gyümölcsben. Kísérletünk jól tükrözte, hogy a fogékony fertőzött gyümölcs inokuláció körüli szöveteiben a baktérium gyorsabban tudott szaporodni, ebből adódott az anyagcsere-folyamataihoz elhasznált cukorfrakciók (glükóz, szacharóz) folyamatos – a rezisztens gyümölcs szöveteiben mérténél gyorsabb – csökkenése.

A **polifenol tartalom** alakulása szinte minden esetben információt ad a védekezéssel kapcsolatban, mivel a növény ezeket a vegyületeket a másodlagos anyagcsere folyamataiban a saját védelmi rendszerére hozza létre. Az irodalomban több példát találhatunk arra, hogy rezisztens növényekben több polifenolos komponens halmozódik fel, illetve a fertőzés hatására nagyobb arányban nő a polifenol tartalom, mint a fogékony fajtában.

Az éretlen gyümölcsökben a fertőzés hatására változó összes polifenol tartalom szintén összefüggést mutatott fogékony/rezisztens stresszválasszal. A rezisztens fajta inokulációs pontjában a fertőzés hatására a polifenolos vegyületek mennyisége nőtt, ami úgy tűnik elegendő védelmet nyújtott a végig a fertőzés során. A fogékony fajta viszont a fertőzési folyamat során végig nem tudott a védelemhez elegendő polifenolos vegyületet szintetizálni.

Levelekben és hajtásokban bekövetkező biokémiai változások

Első kísérletünkben a rezisztens ('Kieffer') és a fogékony fajta ('Packham's Triumph') hajtásában a kiinduló **peroxidáz enzimaktivitás (POD)** értéke az ellenálló fajtában magasabb volt, mint a fogékony fajtában. A fertőzés hatására a fogékony fajta mind az első, mind az ötödik nap a stressz hatására megnövekedett POD enzimaktivitással reagált. Ezzel szemben az ellenálló fajtában az első napra a POD enzimaktivitás csökkent, majd később sem változott, tehát ezekben az időpontokban a fertőzés nem okozott enzimaktivitás növekedésben kimutatható stresszválaszt.

Ezért második kísérletünkben sűrítettük a mintavételt, a konténeres oltványok hajtásaiban és leveleiben a fertőzést követő 48 óráig mértük a biokémiai paraméterek változását, a korai gazdaválasz nyomon követése céljából.

Az *E. amylovora* fertőzés hatására nőtt a peroxidáz enzimaktivitás, de a növekedés mértéke és időbeni megjelenése a fertőzés után más-más volt a fogékony ('Packham's Triumph') és rezisztens ('Kieffer') fajtákban.

POD emelkedést először a rezisztens fajtában észleltünk, az inokulációs pont feletti levelekben: a kontroll (desztillált vizes) mintákban 1 óra után, míg a fertőzött szövetekben már fél óra után. Ez összecseng a fertőzés során tapasztaltakkal, hiszen a vizuális tünetek szintén a fertőzési ponttól felfele láthatók először. Ebből levonható az a következtetés, hogy a növény mind az abiotikus, mind a biotikus stressz hatását érzékelt, de a biotikus stresszre intenzívebb POD enzimaktivitás emelkedést adott. A fogékony fajtában ennél kisebb és azonos mértékű POD emelkedést tapasztaltunk 48 óra után, mind a kontroll, mind a fertőzött szövetekben. Mechanikai sérülésre és fertőzés hatására egyező gazdaválaszt más kutatók is közöltek (Torres et al., 2003). A rezisztens fajta valamennyi levélemeletén a POD aktivitás a 24. órában érte el a maximumát. A fogékony fajtában ennél kisebb mértékű emelkedést a 12. órában (az inokuláció alatti leveleiben), illetve a 48. órában (a többi levélben) észleltünk.

A hajtásokban és levelekben mért **összes polifenol tartalom** változása viszont a peroxidáz enzimnél kevésbé megfelelő paraméter volt a biotikus stressz nyomon követésére.

A **mikroszaporított növényben** a tüzelhalás fertőzésre változó peroxidáz mennyisége szintén jó markernek bizonyult a fogékony és rezisztens gazdaválasz nyomon követésére.

Számos kutatás referál arról, hogy kórokozóval történő fertőzés, illetve mechanikai sérülés a növényekben a **szénhidrát** metabolizmus megváltozásához is vezet. Biotikus stressz hatására több gazda-parazita kapcsolatban megfigyelték a cukor frakciók változását a levelekben.

Kísérletünkben a konténeres oltványok leveleiben a stressz hatásra változó glükóz és szacharózváltozás jól jellemezte a kórfolyamatot. A fertőzésre a fogékony fajta a levélben mért glükóz csökkenéssel reagált, mely már fél órával a fertőzést követően jelentkezett. A kezdeti csökkenés után – valószínűleg transzport folyamat által – visszaállt a kezdeti glükózsint, mely ismét folyamatos, a 24. óráig tartó csökkenésnek indult. A csökkenést és a készletek kimerülését egyfelől a fertőzés következtében felgyorsult anyagcsere magyarázhatja. A csökkenés másik oka, hogy a szövetekben szaporodó baktérium a glükózt az anyagcserefolyamai céljára felhasználja.

Ezzel ellentétben a rezisztens fajtában már az 1. órában glükóz növekedést mértünk, mely az inokulációs pont alatti levelekben a 12. óráig folytatódott, az inokuláció feletti levelekben pedig a 24. óráig a kiindulási szintet meghaladó glükóz koncentrációt mértünk.

A fertőzés hatására a **szacharóztartalomban** is eltérés mutatkozott: a fogékonyban szacharóz koncentráció csökkenést, míg a rezisztensben növekedést detektáltunk. A **hajtásban** a fertőzésre bekövetkezett fogékony/rezisztens gazdaválasz nem különült el, mivel mindegyikben emelkedést mutatott a kiinduláshoz képest. Ezért e szövetrészt nem tartjuk megfelelőnek a fajták fogékonyságának/rezisztenciájának elkülönítésére.

Új tudományos eredmények

Az új tudományos eredményeket az alábbiakban foglalom össze.

1. Magyarországon elsőként vizsgáltam különböző körtefajták tűzelhalással szembeni fogékonyságát. A vizsgálatokba mintegy 40 fajtát vontam be.
2. A körtefajták virágszerveire az *Erwinia amylovora*-val történő inokulációs és értékelési módszereket dolgoztam ki. Megállapítottam, hogy a fajták fogékonyságának/rezisztenciájának mértékét a vacokon és a csészeleveleken jelentkező tünetekkel jellemezhetjük legbiztosabban.
3. A hajtásokra vonatkozó szakirodalomban közölt vizsgálati és értékelési módszereket módosítottam, illetve kiegészítettem a hajtásban levő baktériumok kitenyésztésével és visszaszámlálásával.
4. A szakirodalomban kevés és hiányos adat áll rendelkezésre a körtegyümölcsök tűzelhalás-fogékonyságáról, ezért munkám hiánypótló, melynek során új adatokat szolgáltatam valamennyi rendelkezésre álló körtefajta gyümölcséről.
5. A virág, hajtás és gyümölcs összesített adatainak ismeretében különböző fogékonysági kategóriákba (mérsékleten rezisztens, közepesen fogékony, nagyon fogékony és igen erősen fogékony) soroltam a fajtákat.
6. Megállapítottam, hogy a betegség folyamata biokémiai markerekkel nyomon követhető:
 - a, A vizsgált biokémiai paraméterek közül a peroxidáz enzimaktivitás változása jellemezte legjobban a tűzelhalás fertőzésre adott fogékony és rezisztens gazdaválaszt mind a gyümölcsben, hajtásban, levélben, mind a mikroszaporított növényben.
 - b, A szénhidrátfrakciók közül a glükóz és a szacharóz változásaiból lehetett nyomon követni a kórfolyamatot a fogékony- és mérsékelt rezisztens fajták különböző szerveiben, így a gyümölcsben és a levélben.

Felhasznált irodalom

- Bertrand, P. F., Gottwald, T. R. 1978. Evaluating Fungicides for pear disease Control in: Zehr E. I. (Ed.) Methods for Evaluating Plant Fungicides, Nematicides and Bactericides. St. Paul Minnesota. 179-181.
- Hevesi, M., Papp, J., Jám bor-Benczúr, E., Kaszáné Csizmár, K., Pozsgai, I., Gazdag, Gy., Balla, I. 2000. Testing the virulence of some Hungarian *Erwinia amylovora* strains on in vitro cultured apple rootstocks. Int J Hort Sci, 6 (4): 52-55.
- Horsfall, J.G., Barratt, R.W. 1945. An improved grading system for measuring plant diseases. Phytopathol, 35: 655.
- Jen, J.J., Kahler, K.R. 1974. Characterization of polyphenol oxidase in peaches grown in the southeast. HortSci, 9:590.
- Le Lezec, M., Laurens, F., Michelesi, J. 1998. Suscettibilità varietale del melo e del pero al „colpo di fuoco batterico”. Rivista di Frutticoltura, 98(3): 9-14.
- Melo, M., Shimizu, S., Mazzafera, P. 2006. Polyphenoloxidase activity in coffee leaves and its role in resistance against the coffee leaf miner and coffee leaf rust. Phytochemistry, 67: 277-285.
- Sárdi, É., Velich, I., Hevesi, M., Klement, Z. 1996. The role of endogenous carbohydrates in the *Phaseolus-Pseudomonas* host-plantage interaction. 1. Bean ontogenesis and endogenous carbohydrate components. Hort Sci Hung, 28: 65-69.
- Shannon, L.M., Kay, E., Lew, J.Y. 1966. Peroxidase isozymes from horseradish roots. J Biol Chem, 241(9):2166-2172.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. 1965: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic, (16): 144-158.
- Thibault, B; Belouin, A., Lecomte, P. 1989. Sensibilité varietable du poirier au feu bacterien. L'Arboriculture Fruitière, 421: 29-34.
- Torres, R., Valentines, M.C., Usall, J., Vinas, I., Larrigaudiere, C. 2003. Possible involvement of hydrogen peroxide in the development of resistance mechanism in 'Golden Delicious' apple fruit. Postharvest Biology and Technology, 27(3):235-242. p.
- van der Zwet, T., Keil, H.M. 1979. Fire Blight – A Bacterial Disease of Rosaceous Plants. Agriculture Handbook 510. US Department of Agriculture, Washington, DC, 200. p.

Az értekezés témakörében megjelent publikációk

Lektorált folyóiratcikkek

1. **Honty K.**, Boldog Z., Göndör M., Papp J., Kása K., Hevesi, M. 2003. Reaction of different plant organs of pear cultivars to *Erwinia amylovora* infection. International Journal of Horticultural Science, 9: (1): 17-21.
2. Hevesi M., Göndör Jné, G. Tóth M., Kása K., **Honty K.** 2003. Körtefajták fogékonysága az *Erwinia amylovora* baktériummal szemben. Növényvédelem, 39 (5): 207-213.
3. **Honty, K.**, Hevesi, M., Göndör, M., G. Tóth, M., Bács-Várkúti, V., Ferenczy, A. 2004. Susceptibility of some traditional pear cultivars of Hungarian and foreign origin to the pathogenic bacterium *Erwinia amylovora*. International Journal of Horticultural Science, 10: (3): 41-45.
4. **Honty, K.**, Hevesi, M., Tóth, M., Stefanovits-Bányai, É. 2005. Some Biochemical changes in pear fruit tissues induced by *Erwinia amylovora*. Acta Biologica Szegediensis, 49(1-2): 127-129.

Konferencia kiadványok (angol nyelvű, teljes)

1. Hevesi, M., Göndör, M., G. Tóth, M., Kása, K., **Honty, K.** 2002. Susceptibility of pear cultivars commercially grown in Hungary to the bacterial pathogen *Erwinia amylovora*. Proceedings 8th Symposium „New Aspects of Resistance Research on Cultivated Plants” Bacterial Diseases, November 15-16, 2001. Achersleben, Germany Beitrage zur Züchtungsforschung Bundensanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, pp. 74–77.
2. Hevesi, M., Göndör, M., Kása, K., **Honty, K.**, G. Tóth, M., 2004. Traditional and commercial apple and pear cultivars as sources of resistance to fire blight. EPPO Bulletin 34: 377-380.
3. Hevesi, M., G. Tóth, M., Göndör, M., Papp, J., **Honty, K.**, Kása, K. 2006. Development of eco-friendly strategies for the control of fire blight in Hungary.
4. **Honty, K.**, Göndör, M., Hevesi, M., G. Tóth, M., Kása, K. 2006. Susceptibility of pear cultivars to fire blight in Hungary. Acta Horticulturae, 704: 583-587.
5. **Honty K.**, Hevesi, M., Sárdi, É., Stefanovits-Bányai, É., Tóth, M. 2008. Effect of *Erwinia amylovora* infection in biochemical changes if different pear fruits. Acta Horticulturae, 800: 879-884.

Konferencia kiadványok (angol nyelvű, abstract)

1. Göndör, M., **Honty, K.**, Hevesi, M., Szabó, N., Sárdi É. 2004. Study of carbohydrates on infected pear fruits with *Erwinia amylovora*. International Conference on Horticulture Post-graduate (PhD.) Study System and Conditions in Europe, Lednice, 2004. november 17-19. Abstracts, p. 19.
2. **Honty, K.**, Nagyné-Sárdi, É., Stefanovitsné Bányai É., Tóth, M. 2007. Effect of *Erwinia amylovora* infection on biochemical changes of different pear fruit, 10th International Pear Symposium 22-26. May. 2007. Peniche, Portugalia, Abstracts, p. 78.
3. Hevesi, M., G. Tóth, M., Göndör, M., Papp, J., **Honty, K.**, Kása, K. 2004. Development of eco-friendly strategies for the control of fire blight in Hungary. 10th

- International Workshop on the fire blight. Bologna, Italy 5-9. July 2004. Abstracts, p. 55.
4. **Honty, K.**, Göndör, M., Hevesi, M., Tóth, M., Kása, K. 2004. Susceptibility of pear cultivars to fire blight in Hungary, 10th International Workshop on fire blight, Bologna, Italy 5-9. July 2004. Abstracts, p. 110.

Konferencia kiadványok (magyar nyelvű, abstract)

1. Hevesi M., Papp J., Göndör Jné, G. Tóth M., Kása K., **Honty K.** 2002. Termesztett körtefajták fogékonysága az *Erwinia amylovora* baktériummal szemben. Növényvédelmi Tudományos Napok. Növénykórtan Szekció. Budapest. Összefoglaló, p. 77.
2. Hevesi M., Jámbor-Benczúr E., Göndör M., **Honty K.**, Balla I., G. Tóth M., Kása K., Deli Zs. 2003. Mikroszaporított alma- és körtefajták fogékonysága tűzelhalás (*Erwinia amylovora*) betegséggel szemben. XIII. Keszthelyi Növényvédelmi Fórum. Keszthely. Összefoglaló, p. 62.
3. **Honty K.**, Göndör M., Hevesi M. 2003. Újabb eredmények a körtefajták *Erwinia amylovora* baktériummal szembeni fogékonyságáról. Növényvédelmi Tudományos Napok. Növénykórtan Szekció. Budapest. Összefoglaló, p. 98.
4. **Honty K.**, Göndör M., Hevesi M. 2003. Körtefajták fogékonyságának vizsgálata az *Erwinia amylovora* fertőzés hatására. Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak. 2003. november 6-7. Összefoglaló, p. 320.