

**LÁGYROTHADÁST, ILLETVE HAJTÁSSZÁRADÁST OKOZÓ
BAKTÉRIUMOS BETEGSÉGEKKEL SZEMBENI
ELLENÁLLÓKÉPESSÉG VIZSGÁLATA *IN VITRO*
BURGONYA- ÉS ALMANÖVÉNYEKEN**

Doktori értekezés

Hudák Ildikó

Témavezető: Dr. Tóth Magdolna, DSc
egyetemi tanár

Társkonkuszulens: Dr. Hevesi Mária, CSc



Budapesti Corvinus Egyetem
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

Budapest
2014

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:	Dr. Tóth Magdolna egyetemi tanár, DSc Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar, Gyümölcsstermő Növények Tanszék
Társkonzulens:	Dr. Hevesi Mária 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 nyilvános vitára bocsátható.

Dr. Tóth Magdolna
Az iskolavezető jóváhagyása

Dr. Tóth Magdolna
A témavezető jóváhagyása

A Budapesti Corvinus Egyetem Élettudományi Területi Doktori Tanács 2014. június 3-i határozatában a nyilvános vita lefolytatására az alábbi Bíráló Bizottságot jelölte ki:

BÍRÁLÓ BIZOTTSÁG:

Elnöke

Palkovics László, DSc

Tagjai

**Király Ildikó, PhD
Kruppa József, PhD
Papp István, PhD
Schwarczinger Ildikó, PhD**

Opponensek

**Ficzek Gitta, PhD
Janda Tibor, DSc**

Titkár

Király Ildikó, PhD

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	4
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	6
2.1. A vizsgálatba vont növényfajok szerepe a termesztésben és a mikroszaporításban	6
2.1.1. A burgonya jelentősége és mikroszaporításának lehetősége	6
2.1.2. Az alma jelentősége és mikroszaporításának lehetősége	8
2.2. A vizsgált baktériumfajok	11
2.2.1. A burgonyát károsító baktériumfajok, az előidézett betegségek és a védekezési lehetőségek	11
2.2.2. Az almát károsító baktériumfaj	22
2.3. Kiemelések a növényi stresszfolyamat ismeretköréből és a növények antioxidáns védelmi rendszeréből	32
3. A KUTATÁSOK CÉLJA	36
4. ANYAG ÉS MÓDSZER	38
4.1. Felhasznált anyagok	38
4.1.1. Baktériumfajok azonosítása, biokémiai tulajdonságaik és virulenciájuk vizsgálata	38
4.1.2. Burgonya - és almafajtákból előállított <i>in vitro</i> növények	40
4.2. A fertőzések és tünetértékelések vizsgálati módszerei	40
4.2.1. Burgonyafajták hajtásfertőzése <i>in vitro</i> körülmények között	41
4.2.2. Burgonya mikrogumó fertőzése <i>in vitro</i> körülmények között	43
4.2.3. Primer burgonyagumó fertőzése üvegházi körülmények között	44
4.2.4. Mikroszaporított almafajták hajtásfertőzése	45
4.3. Biokémiai vizsgálatok anyaga és módszerei	48
4.3.1. A kísérletbe bevont növényfajok/fajták és mintavételek	48
4.3.2. Vizsgálati módszerek	48
4.3.2.1. Peroxidáz enzimaktivitás fotometriás meghatározása	48
4.3.2.2. Szénhidráttartalom meghatározása	49
5. EREDMÉNYEK	50
5.1. Az API 20E és API 50CH tesztek eredményei	50
5.2. Burgonyafajták fogékonysága a baktériumfajokkal szemben	52
5.2.1. <i>In vitro</i> burgonyafajták fogékonysága a hajtásfertőzés alapján	52

5.2.1.1. <i>A Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	
fertőzés hatása	54
5.2.1.2. <i>A Dickeya dadantii</i> fertőzés hatása	56
5.2.1.3. Baktérium sejtszám meghatározása	58
5.2.2. Burgonya mikrogumók fogékonysága a gumófertőzés alapján	61
5.2.2.1. <i>A Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	
fertőzés hatása	61
5.2.2.2. <i>A Dickeya dadantii</i> fertőzés hatása	63
5.2.3. Primer burgonyagumók fogékonysága a gumófertőzés alapján	66
5.2.3.1. <i>A Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	
fertőzés hatása	66
5.2.3.2. <i>A Dickeya dadantii</i> fertőzés hatása	67
5.3. Almafajták fogékonysága	69
5.3.1. Baktérium sejtszám meghatározása	71
5.4. Biokémiai vizsgálatok eredményei	73
5.4.1. Peroxidáz enzimaktivitás változások <i>Pectobacterium</i>	
<i>carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i> fertőzés következtében	73
5.4.2. Szénhidráttartalom alakulása <i>Pectobacterium carotovorum</i>	
subsp. <i>carotovorum</i> fertőzés következtében	74
5.4.3. Peroxidáz enzimaktivitás változások <i>Dickeya dadantii</i> fertőzés	
következtében	76
5.4.4. Szénhidráttartalom alakulása <i>Dickeya dadantii</i> fertőzés	
következtében	77
5.4.5. Peroxidáz enzimaktivitás változások <i>Erwinia amylovora</i> fertőzés	
következtében	79
5.4.6. Szénhidráttartalom alakulása <i>Erwinia amylovora</i> fertőzés	
következtében	80
5.5. Új tudományos eredmények	85
6. MEGVITATÁS, KÖVETKEZTETÉSEK	86
7. ÖSSZEFOGLALÁS	92
8. SUMMARY	95
M1 IRODALOMJEGYZÉK	98
M2 TÁBLÁZATOK	106
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	117

Rövidítések jegyzéke

APX	aszorbát peroxidáz
CAT	kataláz
Dd	<i>Dickeya dadantii</i>
Ea	<i>Erwinia amylovora</i>
EDTA	etiléndiamin-tetraecetsav
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
F _i	fertőzési index
GR	glutation reduktáz
H ₂ O ₂	hidrogén-peroxid
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
KSH	Központi Statisztikai Hivatal
MS	Murashige and Skoog táptalaj
NAD(P)H oxidáz	nikotinsavamid adenin dinukleotid foszfát-oxidáz
Pca	<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>artosepticum</i>
Pcc	<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>
PLRV	potato leafroll virus
POD	peroxidáz
PVA	Potato Virus A
PVM	Potato Virus M
PVS	Potato Virus S
PVX	Potato Virus X
PVY	Potato Virus Y
ROS	Reactive Oxygen Species
SOD	szuperoxid dizmutáz
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
U	unit

1. BEVEZETÉS

A környezeti és természeti tényezők változása új biotikus és abiotikus stresszfactorok megjelenését idézte elő hazánkban is. Fontos nemesítési cél a megfelelő termésbiztonság elérése, amelyet döntően befolyásol egy adott növényfaj/fajta stressztűrése, azaz a káros biotikus és abiotikus hatásokkal szembeni ellenállóságuk mértéke. Az ilyen stresszhatások közül hazánkban az utóbbi években jelentős termésveszteségeket idéztek elő a különböző baktériumos betegségek, így az *Erwinia* fajok okozta elváltozások is.

A különböző *Erwinia* fajok egymástól teljesen eltérő betegsëgtüneteket váltanak ki a gazdanövényeken, számos növény mellett a régiókban nagy jelentőséggel bíró burgonyán és almán idéznek elő jelentős károsodásokat. A burgonyát károsító *Erwinia* fajok (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* és *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*), valamint az *Erwinia chrysanthemi*) gazdanövényeik húsos növényi szöveteiben pektinbontó képességükönél fogva ún. lágyrothadást okoznak. Ezzel szemben az *Erwinia amylovora* pektin bontására nem képes, hanem a *Rosaceae* család számos növényfaján hajtáselhalást, rákosodást idéz elő.

A molekuláris biológiai kutatások eredményeként a burgonyát károsító baktériumfajok taxonómiai besorolása az ismeretek bővülése következtében többször változott az évek során (Waldee, 1945, Hauben *et al.*, 1998). Az *Erwinia* nemzetség molekuláris genetikai vizsgálatai alapján az *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*-t és az *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*-t átsorolták a *Pectobacterium* nemzetségbe. 2005-ben pedig az *Erwinia chrysanthemi*-t sorolták át a *Dickeya* nemzetségbe, melynek hat különböző biotípusát különböztetik meg (Samson *et al.*, 2005). Ennek megfelelően az *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ma érvényben lévő elfogadott neve a *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (továbbiakban *Pcc*) (Jones, 1901) Hauben *et al.* (1998), az *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*é a *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum* (továbbiakban *Pca*) (van Hall, 1902) Hauben *et al.* (1998), és az *Erwinia chrysanthemi*é a *Dickeya dadantii* (továbbiakban *Dd*) (Burkholder *et al.* 1953) Samson *et al.* (2005).

Sem a *Pectobacterium*, sem a *Dickeya* fajok nem tartoznak a burgonya zárlati károsítói közé sem hazánkban, sem Európában. Földrajzi elterjedésük igen széles körű, gyakorlatilag mindenütt előfordulnak, ahol burgonyát termesztenek, ezáltal komoly gazdasági károkat okozhatnak szerte a világon. Hazánkban laboratóriumi diagnosztikai vizsgálatokra olyan esetekben kerül sor, amikor az állományban jelentős arányban szártőrothadásos tüneteket észlelnek, vagy felmerül a zárlati *Ralstonia solanacearum* fertőzés gyanúja. Németh (2013) szerint hazánkban a legjelentősebb baktériumos eredetű burgonya tőpusztulással járó esetekben kiváltó kórokozóként

Dickeya fajt azonosítottak. 2001 és 2011 között vizsgálták a *Pectobacterium* és *Dickeya* fajok hazai előfordulását és arra az eredményre jutottak, hogy a következő gyakorisági sorrendet lehet felállítani: *Dickeya* fajok (77%), *Pcc* (16%) és *Pca* (6%). 2007-ben Hollandiában csak a *Dickeya* fajok közel 30 millió € veszteséget okoztak a burgonya vetőgumó kereskedelemben (Slawiak *et al.* 2008). Az ellenük való védekezés a mai napig nem megoldott. Megoldást jelenthetne az ellenálló fajták bevonása a termesztésbe.

Az *Erwinia amylovora* (Burill) Winslow *et al.* (továbbiakban *Ea*) az egész világon problémát jelent, az általa okozott tűzelhalás a legnehezebben leküzdhető betegségek egyike. Mivel a növényvédőszeres védekezés lehetőségei korlátozottak, az egyik legköltséghatékonyabb lehetőség szintén az ellenállóbb fajták köztermesztésbe vonása lenne. Mivel a tűzelhalás kórokozója karantén károsító, ezért a fajták fogékonysága szabadföldi kísérletekben nem tesztelhető, kizárólag laboratóriumi körülmények között végezhető vizsgálatok.

Mikroszaporított növényeken végzett fertőzések hatására bekövetkező biokémiai változásokról szóló szakirodalom elenyésző számban áll rendelkezésünkre. Ráadásul előfordul, hogy ezek eltérő eredményeket közölnek. Ezért tartottuk fontos feladatunknak a biotikus stressz hatására létrejövő gazdaválasz nyomonkövetését biokémiai markerekkel. Azt szeretnénk tisztázni, hogy az eltérő betegségtípusokra azonosan vagy eltérően reagálnak a növények. Mivel a biokémiai változásokat a fertőzés hatására csak azonos körülmények között tartott növényeken lehet követni, ezért volt szükség az *in vitro* előállított növényekre.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A vizsgálatba vont növényfajok szerepe a termesztésben és a mikroszaporításban

2.1.1. A burgonya jelentősége és mikroszaporításának lehetősége

A burgonyafélék (*Solanaceae*) családjába tartozó burgonya (*Solanum tuberosum* L.) fontos népelelmezési cikk. Világszerte termesztett élelmisznövény, amely a rizs (*Oriza sativa* L.), a búza (*Triticum aestivum* L.), a cukornád (*Saccharum officinarum* L.) és a kukorica (*Zea mays* L.) után az ötödik helyen áll mind a termesztett területet, mind a teljes termést tekintve (FAO, 2012).

Kb. 22%-os termésveszteség írható a különböző vírusos, bakteriális és gombás fertőzések, valamint a kártevők számlájára, mely éves szinten 65 millió tonna terméskiesést jelent a világon (Ross, 1986).

Hazánkban is az egyik legjelentősebb kultúrnövény, a nyírségi tájkörzetben kiemelkedő jelentőségű. Magyarországon 2011-ben az összes betakarított termés mennyisége 600 123 tonna volt 21 853 ha termőterületen. Ezzel szemben 2013-ban mindössze 19 847 ha-ról összesen 443 246 tonna burgonya került betakarításra (KSH, 2013). Ez önmagában is jelentős csökkenés, ehhez jön még a szélsőséges időjárás és a különböző kórokozók és kártevők okozta terméskiesés.

A burgonya hagyományos (vegetatív) szaporításából adódóan két fő problémával kell szembenéznünk. Egyik az alacsony szaporodási ráta, a másik komoly probléma pedig az, hogy a burgonya nagyfokú fogékonyságot mutat számos bakteriális, gombás és vírusos betegségekkel szemben, melyek a szaporító anyaggal (gumóval) jelentős mértékben átadódnak az utódokba. Mindez jelentős termésveszteséget okoz, ráadásul a fajta leromlását eredményezi (Dobránszki és Magyarné, 2005).

A kórokozómentes anyagokra alapozott mikroszaporítási technológiával ezek a problémák áthidalhatók. A steril, vegetatív mikroszaporítás vagy más néven *in vitro* klónozás a növénybiotechnológiának az az ága, amelyet ma már széles körben alkalmaznak a gyakorlatban. Elméleti szempontból maga a szaporítás elve tulajdonképpen azonosnak tekinthető a hagyományos vegetatív szaporítási technikával, de a szaporításra felhasznált növényi rész olyan kicsi, hogy csak steril körülmények között, táptalajon tartható életben, illetve nevelhető fel. Hazai viszonyok között a kórokozómentes burgonya szaporítóanyag biotechnológiai módszerekre alapozott előállítását három fő, egymásra épülő lépésre bontható, melyek a következők:

- az *in vitro* szaporítóanyag előállítása mikroszaporítással,
- primer és szekunder gumó előállítása izolált körülmények között,

- vetőgumótermesztés szántóföldön (Magyarné és Dobránszki, 1997).

A mikroszaporítás a kórokozómentes burgonya szaporítóanyag előállításának a bevezető lépése. A burgonyát hajtástenyészet formájában tartjuk fenn *in vitro* körülmények között, és hónalji, illetve csúcsrügyekkel szaporítjuk, melynek lehetőségét az adja, hogy a rügyben található merisztémák genetikai stabilnak tekinthetők, így a fajtajellegek az utódokba nemzedékről nemzedékre változatlanul átadódnak (Dobránszki és Magyarné, 1997).

Az *in vitro* tenyésztés első lépése az indítás merisztémák izolálásával és tenyésztésével. A merisztémát felületi sterilizálás után sztereomikroszkóp alatt kimetszik, és ún. indító táptalajra helyezik. Burgonyánál a gumón megindult hajtások csúcsmerisztémájáról történik az indítás. Nagy jelentősége van az izolált merisztéma méretének; leggyakrabban a 0,1 mm x 0,3 mm nagyságú izolátumot preparálnak ki. Ebben az esetben az explantátumokból még nagy eséllyel (90%<) történik meg a növényregeneráció, mely növények valószínűleg vírusmentesek lesznek. A táptalajra helyezett izolátumból egy-két hónap alatt 7-8 leveles *in vitro* növények fejlődnek (Dobránszki és Magyarné, 2005).

Mivel a burgonya mikroszaporítás célja a kórokozómentes szaporítóanyag előállítása, ezért a mikroszaporításba csak azokat a vonalakat vonjuk be, melyek a vírusesztet (leggyakrabban ELISA teszt) követően vírusmentesnek bizonyultak. Ha az alapanyag vírusmentesítése szükségessé válik, többféle módszert választhatunk, a jelenlévő vírusok típusától függően. A burgonyát fertőző több mint 20 vírus és viroid közül 6 vírusnak van kiemelkedő gazdasági jelentősége, ezek a levélsodró (PLRV), Y (PVY), A (PVA), M (PVM), S (PVS) és X (PVX) vírusok. A merisztéma izolálása és tenyésztése már önmagában is a vírusmentesítés egyik lehetősége. A hőkezelés önmagában vagy merisztématenyésztéssel kombinálva szintén sikeresen alkalmazható a PLRV, PVX, PVA és egyes viroidok esetén. Szükség lehet azonban kemoterápia alkalmazására is, különösen S vírussal fertőzött növények esetében (Dobránszki és Magyarné, 2005).

A burgonya mikroszaporítás során leggyakrabban hajtástenyészetekkel dolgozunk és a hajtások egyrügyes darabjait oltjuk át, a náduszokon található hónaljrügyekből három-négy hét alatt új, átoltásra alkalmas gyökérrel is rendelkező hajtások fejlődnek. A kifejlett 3-5 hetes növénykéik közvetlenül kiültethetők üvegházi körülmények közé. Amennyiben a 4-6 hetes növényeket nem tudjuk kiültetni vagy továbbszaporítani, a tenyészetek előregednek, elpusztulnak. A mikroszaporítás során lehetőségünk van azonban egy másik végtermék, az *in vitro* gumó (=mikrogumó) előállítására is. A mikrogumók a hajtástenyészetekkel biológiailag egyenértékűek, azonban a felhasználásuk számos előnyt jelent: tárolás és szállítás könnyebb, az *in vivo* környezeti feltételekhez jobban alkalmazkodik (Dobránszki és Magyarné, 2005). Ma már

mind az *in vitro* növényeket, mind a mikrogumókat felhasználjuk a vírusmentes szaporítóanyag előállítása során (1. ábra).



1. ábra. *In vitro* burgonyanövény és gumó (Fotó: Dr. Dobránszki Judit)

Az *in vitro* növényt vagy mikrogumót még további két nemzedéken át izolált körülmények között szaporítjuk fel, a visszafertőződést elkerülendő. Az üvegházi körülmények között letermesztett *in vitro* szaporítóanyagokról kapjuk meg az első *in vivo* gumónemzedéket, az ún. primer gumót. Ezt fóliában vagy izolátorháló alatt továbbszaporítva kapjuk meg a második gumónemzedéket, az ún. szekunder gumót. A szekunder gumókat már szántóföldi körülmények között szaporítjuk tovább, szigorú technológiai előírások betartásával, ami lehetővé teszi a jó minőségű vetőgumó előállítását (Magyarné és Dobránszki, 1997).

2.1.2. Az alma jelentősége és mikroszaporításának lehetősége

Az alma Magyarország gyümölcstermesztésének legjelentősebb gyümölcsfaja, az összes gyümölcstermésnek több mint 60%-át adja. Az utóbbi időszakban a termés jelentősen visszaesett, kb. 35 ezer hektáron a 2006-2010-es évek átlagában évente átlagosan 470 ezer tonna alma termett. Ezen túlmenően a két fő felhasználási forma - léalma, étkezési alma – aránya is kedvezőtlen. A 2000-es évek elején a termés több mint 80%-át dolgozta fel az élelmiszeripar, de nem elsősorban nagy hozzáadott értékű termékek, hanem sűrítmény és félkész termékek előállítására (Tóth, 2013b).

Míg a 80-as években az 1,2 millió tonna körüli termés sem volt ritka, addig mára a 600 ezer tonna elérése is nagy eredmény. 2011-ben az országban összesen 235 000 tonna termett 35 689 ha területen. 2012-ben 614 000 tonna almát sikerült betakarítani 26 067 ha-ról (KSH, 2012).

Jelenleg a hazai almafogyasztás kb. 15-20 kg/fő/év, ami messze elmarad a 80-as évek 30 kg/fő/év körüli szintjétől. Ennek több oka is van, többek között az életszínvonal romlása, a

fizetőképesség kereslet csökkenése és a déli gyümölcsök térnyerése a magyar piacon, melyek egyértelmű helyettesítő termékei és vetélytársai az almának.

A gyümölcstermő fás növény fajok, beleértve az almát is, szaporítása vegetatív (ivartalan) úton történik, mert a fajtaazonosság csak így tartható meg. A szaporítóanyag előállítás elsődleges feladata a genetikai tulajdonságok megőrzése mellett a kórokozómentesség biztosítása. Az oltványok előállításához alany és nemes törzsültetvényekről származó hajtásokat/rügyeket használnak, azonban az idősebb törzsültetvények a több évig tartó termesztés alatt jelentős mértékben fertőződtek kórokozókkal, elsősorban vírusokkal. Szükségessé vált tehát a már meglévő, termesztésbe vont fajták vírusmentesítése (általában hőkezeléssel) és a vírusmentesített alapanyagok mikroszaporítással történő felszaporítása új, megfelelő egészségi állapotú törzsültetvények létrehozásához (Dobránszki, 2005). Az új termesztési módszerek, felhasználási igények, illetve a környezeti változások sürgetik az újabb fajták kifejlesztését, valamint az új fajták gyors felszaporítását. Ennek megvalósításában nagy szerepe van a kórokozó-mentesített alapanyagok *in vitro* klónozással, üzemi méretekben történő felszaporításának.

Az alma mikroszaporítása két lépcsőben történik, a felszaporítási ciklusban csak a hajtások sokszorozódása történik a kívánt mennyiség eléréséig (ez az ún. hajtássokszorozási vagy proliferációs szakasz). Ezt követi az *in vitro* hajtások gyökerindukciós szakasza (Zimmerman és Broome 1980). Az irodalmi adatok (James és Thurbon, 1979, Karhu, 1995) erős genotípus függést mutatnak mind a hajtássokszorozási, mind a gyökeresítési fázisban, ezért egy-egy módszer általában nem adaptálható a fajták széles körére. Az *in vitro* körülményeket, a táptalaj összetételét mindig az adott genotípusra kell optimalizálni.

Almánál az *in vitro* tenyészetek létrehozása merisztéma vagy hajtáscsúcsizolálással történhet. Indításkor az explantátumok barnulása az egyik leggyakrabban jelentkező probléma, mely végül akár az explantátum elhalását is eredményezheti. A jelenség oka a polifenolok nagy mennyiségben történő képződése, mely valószínűleg egyfajta – a szövetek megsebzése által indukált – védekezési reakció. Az explantátum barnulás miatti elhalását megakadályozhatjuk, ha az explantátumot gyakran áthelyezzük új táptalajra, vagy különböző adalékanyagokat alkalmazhatunk a táptalajban pl. aktív szén, polivinil-pirrolidon stb. (Jámborné, 2005).

A hajtássokszorozási szakaszban az újonnan fejlődő hajtások számát, hosszát és fiziológiai állapotát számos tényező befolyásolja. Ezek közül a legfontosabbak a genotípus, a táptalaj alkotók (sók, szénhidrátok, növekedési regulátorok típusa és koncentrációja), megvilágítási körülmények stb. (Dobránszki és Teixeira da Silva, 2010).

Az alma mikroszaporításában használt táptalaj leggyakrabban az MS (Murashige and Skoog, 1962) táptalaj, mely szénhidrát forrásként többnyire szacharózt tartalmaz. A szénhidrát típusa jelentősen befolyásolja a hajtásproliferáció sikerét, és a különböző genotípusok igénye eltérő

lehet, például a 'McIntosh' fajta esetében jelentősen nőtt a hajtások száma, amikor a táptalaj szacharóz helyett szorbitolt tartalmazott (Karhu, 1995). Az alma mikroszaporítás sikerét jelentős mértékben meghatározza az *in vitro* hajtásokon végzett gyökérindukció, majd a járulékos gyökerek kifejlődése után a hajtások sikeres akklimatizációja (Bolar *et al.*, 1998).

A hatékony gyökeresítési és akklimatizációs technológiák kidolgozásának jelentős szerepe van a transzgénikus vonalak előállításában is. A legtöbb nemes és alanyfajta gyökeresedése problémát jelent mind *in vivo* mind *in vitro* körülmények között, azonban számos genotípus esetén sikeres gyökeresítési és akklimatizációs eredményekről számoltak be (Dobránszki és Teixeira da Silva, 2010). A különböző genotípusok igénye a gyökeresítés körülményeire igen eltérőek, fontos szerepe van a sötét környezetnek, valamint az alkalmazott szénhidrát mennyiségének, típusának (Yepes és Aldwinckle, 1994; Welandar, 1983; Bahmani *et al.*, 2009), azonban a gyökérindukciós fázisban legjelentősebb tényezőnek a táptalajhoz adagolt auxin bizonyult (James, 1983).

További nehézséget jelent a gyökeres *in vitro* hajtások akklimatizációja, mely fázist célszerű a hosszúnappalos időszakban végezni (legmegfelelőbb a tavasz), hogy a növények a téli időszak beköszöntéig kellőképpen meg tudjanak erősödni, és szabadföldi körülmények között át tudjanak telelni (Dobránszki, 2005).

Az alma *in vitro* szövettenyésztésnek nem csak a fajtafenntartásban, hanem a nemesítésben is jelentős szerepe van (Korban és Chen, 1992). Az *in vitro* tenyészeteket sikeresen használhatjuk karantén kórokozók tesztelésére is, mivel steril körülmények között, biztonságosan folynak a mesterséges fertőzések és megfigyelések, a kísérleti anyag a vizsgálatok után könnyebben megsemmisíthető, a kórokozó kiszabadulásának nincs veszélye.

2.2. A vizsgált baktériumfajok

2.2.1. A burgonyát károsító baktériumfajok, az előidézett betegségek és a védekezési lehetőségek

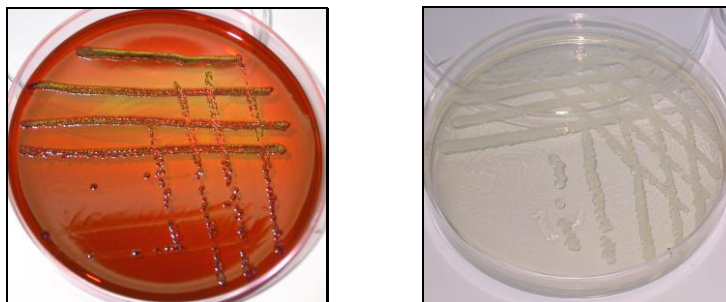
A *Pectobacterium* fajok (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (*Pcc*) és a *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum* (*Pca*)), valamint a *Dickeya* fajok (*Dickeya dadantii* (*Dd*)) által okozott betegségek: a fekete szártőrothadás vagy feketelábúság, a szár nedves rothadása és a gumók nedves rothadása (Pérombelon, 2002) mind a vetőburgonya, de az étkezési burgonya termesztése során is igen jelentős károkat okozhatnak.

Amíg a *Pcc*-nak számtalan gazdanövénye van világszerte, addig a *Pca* csak a burgonyán károsít főleg a mérsékelt övi régióban. Ezzel szemben a *Dickeya* fajok, bár korlátozott számú gazdanövényen élnek meg, előfordulnak mind a mérsékelt, mind a szubtrópusi és trópusi régiókban (Toth *et al.*, 2011). Mind a három baktériumfaj okozhat lágyrothadást, de a fekete szártőrothadás tünetét nem mindig tulajdonították mindhárom baktériumfajnak. Egy ideig úgy gondolták, hogy csak a *Pca* okoz fekete szártőrothadást a mérsékelt éghajlati övben és a *Dickeya* fajok pedig a melegebb régiókban (Pérombelon és Salmond, 1995). Később azonban a *Pcc*-ről is kimutatták, hogy a burgonyát fertőzve tipikus feketelábúság tüneteket okoz (de Haan *et al.*, 2008). Mindez Európában a nyári időszak hőmérséklet változásainak is köszönhető, vagy pedig felveti annak a lehetőségét, hogy adaptálódott formák alakulhattak ki. Figyelemre méltó, hogy a forró nyarairól is ismert Colorádóban és Arizonában (USA) már régóta megfigyelték, hogy a *Pcc* is okozhat feketelábúságot (Molina és Harrison, 1977).

A *Dickeya* fajokról régóta közismert, hogy fekete szártőrothadást okoznak a trópusi és szubtrópusi területeken, viszont Nyugat-Európában csak 1988-ban izoláltak *Dickeya* fajokat feketelábúság tüneteit mutató növényekről (Janse and Russien, 1988). Magyarországra az 1980-as évek közepén került be import vetőburgonyával. A *Dickeya* fajok kártételéről szóló hírek száma az elmúlt évtizedekben megnövekedett, ami részben annak köszönhető, hogy a korábbi burgonyát károsító *Dickeya* fajokhoz képest (*Dickeya dianthicola*, *Dickeya dadantii*) egy új fajt azonosítottak, melyet a szakirodalom *Dickeya solani*-ként említ.

A közelmúltban a *Pectobacterium carotovorum* két új alfaját írták le, mely szártőrothadást okoz. A *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* egy agresszív baktérium, mely a Braziliában és Dél-Afrikában előforduló szártőrothadás jelentős részéért tehető felelőssé (Duarte *et al.*, 2004; van der Merwe *et al.*, 2010). A másik alfaj a *Pectobacterium carotovorum* subsp. *wasabiae*, melyet a burgonya új kórokozójaként írtak le Új-Zélandon, de később a japán torma lágyrothadásával is összefüggésbe hozták (Garden *et al.*, 2003; Pitman *et al.*, 2010).

Mind a *Pectobacterium*, mind a *Dickeya* fajok könnyen tenyésztethők, és polipektátot tartalmazó szelektív táptalajon könnyen felismerhetők (Stewarts MacConkey-pektát táptalaj, Cuppels és Kelman kristályibolya-pektát (CVP) táptalaj) ugyanis mély „árkokat”, „krátereket” okoznak. Eozin-metilénkék agaron (Holt-Harris és Teague, 1916) pedig arany színű telepeket fejlesztenek (2. ábra).



2. ábra. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* telepek eozin-metilénkék agaron, illetve Nutrient agaron

A *Pcc* pálcika-alakú, Gram-negatív, $0,7 \times 1,5 \mu\text{m}$ méretű, peritrich flagellával rendelkező baktérium. Nem spóráképző és fakultatív anaerob (Hauben *et al.*, 2005). A *Pca* maltózból és α -metil-glükózidból savakat képez, a szacharózt redukálja, táptagon 36°C felett nem nő. A *Pcc* tipikus törzsei α -metil-glükózidból nem képeznek savakat és a szacharózt sem redukálják, táptagon 36°C felett szintén nem nőnek.

A baktérium a gazdanövény sejtközötti járataiba behatolva sokszorozódik és pektolítikus enzimeket (pektin-metil-észteráz, depolimeráz és pektin-liáz) termel, ezáltal a középmez feloldásával fellazítja a szöveti szerkezetet (lágyrothadás). A pektolítikus enzimek mellett kisebb mértékben cellulózbontó enzimek is termelődnek, amelyek a sejtfalban lévő cellulózt roncsolják. A sejtek víztartalma a sejtközötti járatokba diffundál, a sejtek halálát okozva. A baktérium a keményítőt csak a rothadás késői stádiumában bontja le.

A kórokozó mindenekelőtt fertőzött vetőgumóval terjed. Fertőzött vetőgumó elültetése után – a tenyésztő bármely szakaszában! – nagyszámú baktériumsejt kerül a talajba, ahonnan fertőződik a gazdanövény földfeletti része is. A tenyésztőszakban a baktérium gyorsan szaporodik a gazdanövény vagy bizonyos gyomok rizoszférájában. A talajban általában rövidebb-hosszabb ideig képes fennmaradni, de a fertőzött szárban, vagy gumóban a telet is átvészeli. A talajban való túlélése a környezeti tényezőktől függ, hűvös, nedves körülmények között hosszabb ideig is életképes marad. A baktérium a talajvízbe kerülve a szomszédos területek növényeinek fejlődő gumóit is képes megfertőzni. A fertőzés mértéke szintén

nagymértékben függ a környezeti feltételektől. A baktérium behatolhat a lenticellákon, a gumóhéj repedésein, vagy a betakarításkor keletkező gumósérüléseken keresztül. Csekély fertőzés esetén a gumóban a kórokozó az egész tárolási periódust képes túlélni, viszont az ültetés után a baktérium gyorsan terjed, és a kór folyamat, azaz a **gumók lágy rothadása** folyamatosan ismétlődik, kiegészülve azzal, hogy a gumók mosására használt vízzel is gyorsan terjed a baktérium.

A betegség fellépésének mértéke az időjárástól függ. Hazai viszonyok között a baktériumok nem telelnek át a talajban. Fennmaradásuk a talajban korlátozott, 1 hét és 6 hónap közé tehető attól függően, hogy milyenek a környezeti feltételek pl. a talajnedvesség, a hőmérséklet és a pH stb. Az életben maradásuk meghosszabbodhat, ha növényanyaggal kerülnek a talajba, de ekkor sem képesek a vetésforgóban 3-8 évnél tovább fennmaradni (Anilkumar és Chakravarti, 1970; Rangarajan és Chakravarti, 1970; Lim, 1975; Pérombelon és Hyman, 1988). Bőséges csapadék, így a nagy talajnedvesség és viszonylag alacsony hőmérséklet (18-19 °C) a betegség kifejlődésének kedvez, míg a meleg, száraz idő a betegség kialakulását és terjedését akadályozza, a baktérium a talajban kisebb távolságokra képes eljutni. A sűrű, tömött és nedves lombozat elősegíti a szár fertőződését. Ha hűvös, nedves időszakban ültetünk, s azt a kihajtás időszakában magas hőmérséklet követi, ez mindenképpen a betegség megjelenésének kedvez, mivel magas talajhőmérsékleten gyakori, hogy a hajtások a felszínre kerülés előtt elrothadnak. Ezért meleg és nedves körülmények között a fekete szártőrothadás okozta veszteség meghaladhatja a hűvös klímán okozott kártétel mértékét is. A *Pcc* tipikus fekete szártőrothadásos tüneteket okozhat magas (30-35 °C) talajhőmérséklet esetén.

Ma már általánosan elfogadott, hogy a fekete szártőrothadás fő forrása a látens fertőzött anyagumó (Pérombelon, 1974). Amikor az anyagumó elrothad, a baktériumok kikerülnek a talajba, és a talajvíz révén kapcsolatba kerülnek a szomszédos gumókkal. Czajkowski *et al.* (2010) kimutatták, hogy a baktériumok a talajban a burgonyagyökereken megtelepednek, majd az edénynyaláb rendszeren keresztül kerülnek a gumókba és onnan a szárba, de nem feltétlenül okoznak tünetet, hanem látens formában túlélhetnek.

A levegőnek is fontos szerepe van a baktérium terjedésében (Graham, 1976; Harrison *et al.*, 1987; Pérombelon, 1992). Levegőmintákat vizsgáltak Skóciában és kimutatták, hogy mind *Pcc*-ot, mind pedig *Pca*-t tartalmaztak a minták esősebb napokon több, míg szárazabb napokon kevesebb számban. A fertőzött növényekről a kórokozó a levegőbe kerül, és a rovarok (pl. drótféreg) révén nagy távolságokra is képesek eljutni. Rovarfajokon kívül az esőcseppekkel, öntözéssel, művelési szerszámokkal szintén terjed a kórokozó. Felszíni vizekben az USA-ban és Skóciában is találtak *Pcc*-t, valamint kisebb mennyiségben *Pca*-t (McCarter-Zorner *et al.*; 1984, Harrison *et al.*, 1987). Az utóbbi időben, még le nem írt *Dickeya* fajokat találtak folyóvízben és

ezzel egyidejűleg fertőzött vetőgumókra bukkantak Finnországban (Laurila *et al.*, 2008, 2010). Valószínűleg az öntözési célokra használt felszíni vizek szintén forrásai lehetnek a kórokozónak, illetve újonnan megjelenő variánsainak. A gumódarabolás is nagymértékben elősegíti a baktérium terjedését.

Gumók lágyrothadása. Azok a körülmények, melyek kedveznek a szártőrothadás kialakulásának, szintén kedveznek a gumók lágyrothadásának is (Pérombelon, 1992). A kór folyamat gyorsabb a nagyobb nedvességtartalmú növényi szövetekben. A fertőzött gumók nedvesrothadását elősegíti, ha a gumó éretlen, a gumón sebzés van, a gumót napsugárzás éri, a magasabb hőmérséklet, a nagy páratartalom és az oxigén hiánya. 20-25 °C talajhőmérséklet felett betakarított gumók fogékonyága jelentősen nő. A rothadási folyamatnak a 10 °C feletti hőmérséklet kedvez, de az optimális hőmérséklet 25-30 °C, mely egyben laboratóriumi körülmények között is az optimális hőmérsékleti tartomány a patogén tenyésztésére. Magas hőmérsékleten (30 °C felett) jelentős a másodlagosan fertőző kórokozó fajok (*Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium sp.*) kártétele is.

A kórokozó baktérium szaporodásához nincs szükség oxigénre, így az oxigénhiányos környezet kedvez a gumó nedves rothadás betegség kifejlődésének. Ha a gumókat a talajban, vagy a tárolás során vékony nedvességfilm borítja (nedves környezetben ez könnyen előfordul), a szövetek gyorsan oxigénhiányossá válnak (Pérombelon *et al.*, 1989). Oxigénhiányos állapot alakulhat ki a talaj elárasztása (nem megfelelő öntözés, illetve rossz vízgazdálkodású talaj), a gumók mosása, vagy a gumóknak fungicid hatású növényvédőszerrel való bepermetezése esetén is. A gumó természetes védekezési rendszerét az oxigénhiány leblokkolja, a nedves rothadást okozó baktériumfajokat azonban nem befolyásolja hátrányosan. Fokozott nitrogénellátottság mellett a növények fogékonyabbak a baktériumok fertőzéseivel szemben. A túlzott műtrágyaadagok előidézhethetnek „növekedési repedéseket” a gumókban, valamint az átlag feletti csapadék is okozhat gumórepedéseket a védő hatású peridermában, melyek lehetővé teszik a kórokozók behatolását a gazdanövénybe.

A **fekete szártőrothadás tünetei** (3. ábra) a növényfejlődés bármely szakaszában jelentkezhetnek. Nedves körülmények között a fertőzött növény szárán tintafekete színű elszíneződést figyelhetünk meg, amely a szár alapjáról indul ki és halad felfelé; kiterjedése lehet néhány milliméternyi, de érintheti az egész hajtást is. A fekete elszíneződés felett a szárból gyakran elrothad, a szállítószövetek elszíneződnek. Abban az esetben viszont, ha a fertőzés száraz körülmények között jön létre, a fertőzött növények satnya növekedésűek lesznek. A lombzat klorotikussá válik és a levélké szélé felfelé bepödrődik. Kezdetben a levélké, majd

később az egész növény hervad, és lassú hanyatlásnak indul, végül elpusztul (Pérombelon és Kelman, 1980).

Késő nyáron, kifejezetten esős körülmények között előfordulhat, hogy a szár rothadása a növény felső részéről indul és halad lefelé, de ilyen tüneteket csak a *Pcc* esetén figyeltek meg (Pérombelon és Kelman, 1980).



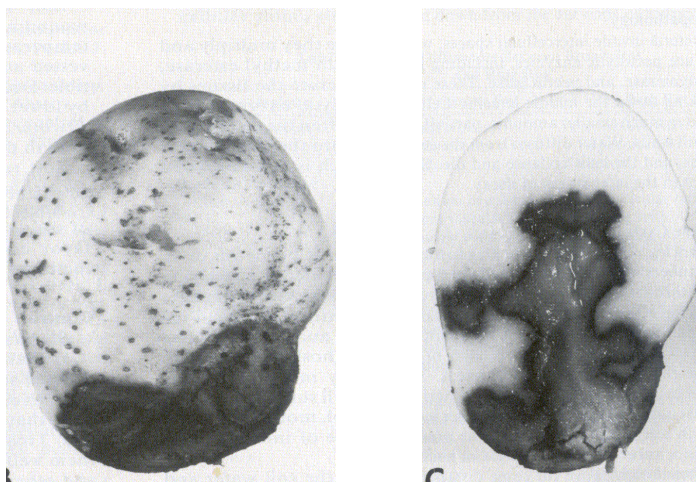
3. ábra. A fekete szártőrothadás tünetei burgonyahajtásokon

(Forrás: **A:** Harrison, M. D. In: Hooker, W. J. (ed) 1990. Compendium of Potato Diseases. APS PRESS, USA; **B:** Rowe, R. C. (ed) 1993. Potato Health Management, APS PRESS, USA)

Fertőzött vetőgumó esetén néha már a kelés után is láthatók a növésben visszamaradt, sárguló, fertőzött tövek. Gyakori, hogy a hajtások a föld felszínéig sem jutnak el, hanem már előbb elhalnak. Nagy talajnedvesség esetén sokszor a beteg gumó ki sem hajt, hanem elrothad.

A szár és a levél vagy sebzésen keresztül, vagy természetes nyílásokon keresztül fertőződhet az öntözővíz, aeroszolos kezelés, vagy rovarok által. A fertőzés a szárban és levélnyélben lefelé és felfelé is terjedhet, így a szártőrothadás olyan növényeken is kialakulhat, melyek anyagumója egészséges volt. Nedves időben a rothadás nedves, nyálkás és a növény nagy részére kiterjed. Száraz időben a fertőzött szövetek kiszáradnak, összezsugorodnak, és a tünetek gyakran csak a szár alsó részén figyelhetők meg. A fertőzött szár (3. ábra) sokszor világos vagy középbarna, a tintafekete elszíneződés nem mindig jellemző.

A fertőzött növényen fejlődő gumók a betegség különböző stádiumainak tüneteit mutathatják a sztólóvégen megfigyelhető enyhe edénnyaláb elszíneződéstől a gumók teljes elrothadásáig. A fertőzött gumókban a sztóla felőli végből kiindulva a bél és a medulláris régió nedves rothadása figyelhető meg, jellegzetes tünete a gumó sztólós részében bemélyedő megsötétedett folt (4. ábra).



4. ábra. A fekete szártőrothadás tünetei gumókon

(Forrás: Hooker, W. J. (ed) 1990. Compendium of Potato Diseases. APS PRESS, USA)

Gumók lágyrothadása. A gumók a betakarítás előtt, vagy a tárolás során fertőződhetnek a lenticellákon (paraszemölcsökön), a gumósérüléseken, vagy a fertőzött anyanövénytől a gumó sztoló felőli végén keresztül. A lenticellákon keresztül megfertőződött gumókon a lenticellák körül kissé beesett sárgásbarna, körkörös, vizenyős, 0,3-0,6 mm átmérőjű foltok figyelhetők meg. Száraz körülmények között ezek a területek kiszáradnak, keménnyé válnak. Ha a kórokozó sebzésen keresztül hatolt be, szabálytalan alakú, beesett, sötétbarna foltok alakulnak ki. A lágy rothadásos szövetek nedvesek, krémszínűek, lágy, enyhén kásás konzisztenciájúak. A fertőzött szövetek élesen elválnak az egészséges szövetektől. A sebek szélén gyakran figyelhető meg barna vagy fekete pigmentáció (5. ábra). A rothadó szövetek kezdetben szagtalanok. Később, ha a fertőzött szövetekbe másodlagosan egyéb baktériumok hatolnak be, kellemetlen szagúvá, nyálkás, nyúlós konzisztenciájúvá válnak.



5. ábra. A gumók lágyrothadásának tünetei

(Forrás: Huguelet, J. E. In: Hooker, W. J. (ed) 1990. Compendium of Potato Diseases. APS PRESS, USA)

A *Pectobacterium*, illetve *Dickeya* fajok meghatározása a tünetek alapján nem lehetséges, ehhez laboratóriumi vizsgálatok szükségesek (biokémiai, szerológiai, illetve molekuláris biológiai módszerek stb.).

Mivel a kórokozók a paraszemölcsökben vagy az edénynyaláb rendszerben helyezkednek el, ezért a **betegség elleni védekezés** nem vagy nehezen megvalósítható növényvédő szerekkel. Mindenképpen integrált szemléletre van szükség; legfontosabb a megelőzés.

A kereskedelmi forgalomban lévő burgonya fajták fogékonysága a *Pectobacterium* és *Dickeya* fajokkal szemben eltérő. Néhány fajta részleges rezisztenciát hordozhat, de jelenleg teljesen ellenálló fajták nincsenek köztermesztésben. Tzeng *et al.* (1990) szerint azok a kutatások, melyeknek a célja a rezisztens burgonyafajta létrehozása volt, azért voltak csak részben sikeresek, mert a használt nemesítési alapanyag viszonylag szűk diverzitású, ráadásul nem is kapott megfelelő hangsúlyt az ez irányú nemesítés más kórokozókkal szembeni vagy egyéb agronómiai tulajdonságokra való nemesítésekkel szemben. További problémát jelenthet, hogy a vizsgálati módszerek sem egységesek. A fajták rangsora a lágyrothadással szembeni rezisztenciájukat tekintve függ attól, hogy milyen az inokulálási módszer, továbbá szántóföldi vagy laboratóriumi vizsgálatokról van-e szó (Bain és Pérombelon, 1988; Lojkowska és Kelman, 1994). Allefs *et al.* (1995) szerint kizárólag a szántóföldi kísérletek azok, melyek megbízható eredményeket adnak.

A burgonya rezisztencianemesítésében fontos szerepet tölthetnek be a vad *Solanum* fajok, mint génforrások. Több mint 200 vad *Solanum* faj van a különböző amerikai, és európai génbanki gyűjteményekben, melyek között vannak a *Pectobacterium* és *Dickeya* fajokkal szemben ellenállók is (Hijmans és Spooner, 2001). Ráadásul ezen vad fajok többsége diploid, mely megkönnyíti a hibridizációt a *Solanum tuberosum*mal, nem úgy, mint a tetraploid *Solanum* fajok (Watanabe *et al.*, 1994). Ide tartoznak a *S. canasence*, a *S. tarijense* és a *S. tuberosum* subsp. *andigena*. Ez utóbbiról úgy gondolják, hogy a közönséges burgonya közvetlen leszármazottja és magas szintű rezisztenciát hordoz, mind a *Pectobacterium*, mind a *Dickeya* fajokkal szemben (Hidalgo és Echandi, 1982). A hibridek közül a *S. tuberosum* és a *S. phureja* gyakran használatos a nemesítési programokban az ellenállóságuk miatt, a terméshozamuk viszont alacsony (Rousselle-Bourgeois és Priou, 1995). Amikor a vad *Solanum* fajok közül a *S. commersonnii* - mely közismerten ellenálló a faggyal, fonálférgekkel és gombákkal szemben - keresztezik *S. tuberosum*mal az utódok magasfokú rezisztenciát mutatnak a *Pectobacterium* és a *Dickeya* fajokkal szemben is, mind az üvegházi, mind a szántóföldi kísérletek során (Laferriere *et al.*, 1999). A kereskedelembe lévő burgonyafajtáknál ellenállóbb utódokat kaptak, ha *S. tuberosum* hibrideket kereszteztek *S. chacoense*, *S. sparsipillum* vagy *S. multidissectum* fajokkal. Itt a problémát a magasabb glikoalkaloid-tartalom jelentette, mely mérgező mind az ember, mind

az állatokra nézve (Carputo *et al.*, 1997). A *Solanum brevidens* egy diploid *Solanum* faj, mely gumót nem hoz, de néhány burgonyavírussal és a faggyal szemben ellenálló. A *S. tuberosum* és a *S. brevidens* szomatikus hibridjei már magasszintű rezisztenciát mutattak a *Pectobacterium* és a *Dickeya* fajokkal szemben, és ez a tulajdonságuk átvihető volt az F₁ és F₂ nemzedékbe is, valamint visszakeresztezhető *S. tuberosum* fajtákkal (Zimnoch-Guzowska és Lojkowska, 1993; Zimnoch-Guzowska *et al.*, 1999). Mindez azt bizonyítja, hogy viszonylag távoli rokonságban álló *Solanum* fajokat is be lehet vonni a burgonya rezisztencianemesítésébe (Austin *et al.*, 1988).

A jó minőségű burgonya tárolásának fontos kritériuma az alacsony hőmérséklet (kb. 5 °C) és a megfelelő szellőzés. A mérsékelt égövi országokban ez kisebb gondot okoz, mint a trópusi vagy szubtrópusi országokban, ahol a tárolás komoly és valós probléma. A magas külső hőmérséklet a nem szabályozott tárolás során nemcsak a gumók nyugalmi állapotát befolyásolja, hanem a kártevők és a kórokozók szaporodását is elősegíti, ezáltal különösen a lágyrothadást okozó baktériumok okoznak súlyos veszteségeket. A gumók fizikai kezelése a gumó felületén lévő baktériumok széles körére hatással lehet. Hátránya, hogy a jótékony mikroorganizmusokra is károsan hathat és az egészséges gumó fizikai állapotát is kedvezőtlenül befolyásolhatja. A lágyrothadás ellen használt fizikai kezelések között több módszert említenék meg. Ezek a forró víz, a gőz (Robinson és Foster, 1987; Shirsat *et al.*, 1991), a száraz meleg levegő (Bartz és Kelman, 1985), valamint az UV-sugárzás és a napsugárzás (Ranganna *et al.*, 1997; Bdliya és Haruna, 2007).

Lágyrothadást okozó baktériumok ellen meleg vizes kezelést 1983-ban végeztek először (Mackay és Shipton, 1983). 10 percig 55 °C-os vízben áztatták a természetes úton fertőződött burgonyagumókat, és a felületükön nem tudtak sem *Pcc*-t, sem *Pca*-t kimutatni. Szántóföldön sem tudtak fekete szártőrothadást megfigyelni a kezelt gumókból fejlődött növényeken. Hasonló eredményeket kapott Wale és Robinson (1986) és Shirsat *et al.* (1991), akik kimutatták, hogy 45 °C-os vízben 30 percig vagy 56 °C-os vízben 5 percig kezelt gumókon szignifikánsan csökkent a periderma és a lenticellák kórokozók okozta szennyezettsége, ezáltal a szártőrothadás esélye is csökkent a szántóföldön. Azonban ha a megfelelő szárítás elmarad, a túlélő baktériumok gyorsan felszaporodhatnak, és gyors rothadást idézhetnek elő. A kezelés hátránya, hogy egyéb gombás fertőzések kialakulását is elősegítheti (Dashwood *et al.*, 1991).

A gőzt is vizsgálták a meleg vizes kezelés alternatívájaként azért, hogy a gumó felületén jelenlévő *Pcc*-t és *Pca*-t eltávolítsák. Ezzel a kezeléssel a 26-59%-os fertőzöttséget 1-3%-ra sikerült csökkenteni (Afek és Orenstein, 2002). Bartz és Kelman (1985) is arról számolt be, hogy a gumófelületen lévő, külső *Pcc*-t sikerült gyéríteni 50 °C-os száraz, meleg levegő átfuvarásával. Ez a kezelés azonban kevésbé hatékony a meleg vizeshez képest, mivel hosszabb kezelési időre van szükség, amely kedvezőtlenül befolyásolhatja a gumók fiziológiai állapotát.

Ranganna *et al.* (1997) tesztelték az UV sugárzás hatékonyságát *Pcc*-val fertőzött gumókon. A lágyrothadást okozó baktériumokat már egy viszonylag alacsony (15 kJm^{-2}) UV sugárzás is elpusztítja. A vákuuminfiltrációval fertőzött gumókat közvetlen napfénynek tették ki 3 órán keresztül. A fertőzött gumókon tünetek egyáltalán nem alakultak ki, ami valószínűleg annak köszönhető, hogy a közvetlen napfény hatására a gumó felszínének hőmérséklete megemelkedett, amely kedvezőtlenül befolyásolta a baktériumok szaporodását.

A fizikai kezelések előnye, hogy vegyszermentesek, viszont csak a gumók felületén jelenlévő kórokozók gyérítésére alkalmazhatók. A szövetek belsejében lévő patogének ellen nem hatásosak. Széleskörű alkalmazásuk nehézkes és a működési költségek is jelentősek lehetnek.

A kémiai védekezés története során elsőként kell megemlítenünk az antibiotikumokat, kiemelve a sztreptomicint és származékait. Hosszú időn keresztül ezt az antibiotikumot tartották ígéretes lehetőségnek a védekezés szempontjából. Bonde és de Souza (1954) a vetőgumókat sztreptomicin és oxitetraciklin-hipoklorit keverékébe vagy sztreptomicin és higanyvegyületek keverékébe mártotta ültetés előtt, mellyel csökkentették a szártőrothadás előfordulását szántóföldön, illetve a gumók lágyrothadását a tárolókban. Hasonló eredményeket kapott Wyatt és Lund (1981), valamint Bartz (1999), amikor kasugamicint vagy virginiamicint használtak sztreptomicin helyett. Bár a kísérleti eredmények ígéretesek voltak, humángyógyászati szempontból nem kívánatos az antibiotikumok használata. Fennáll az antibiotikummal szembeni rezisztencia kialakulásának veszélye mind az emberekben, mind az állatokban.

Az antibiotikumok alternatívájaként teszteltek különböző baktericideket elsősorban laboratóriumi kísérletekben. Szerves vegyületek közül a hidroxikinolint és az 5-nitro-8-hidroxikinolint találták hatékonynak lágyrothadást okozó baktériumok ellen, sérült burgonyagumókon (Harris, 1979). Hasonló eredményeket kapott Bartz és Kelman (1986) a klórtartalmú vegyületekkel. Kísérletükben bronopolt (2-bróm-2-nitropropán-1,3-diol) és egy szintetikus baktericidet, a 7-klór-1-metil-6-fluor-1,4-dihidro-4-oxo-3-kinolin karboxilsavat teszteltek. Mills *et al.* (2006) kimutatták, hogy bizonyos szerves és szervetlen sók, mint például az alumínium-acetát, a nátrium-metabiszulfát, a nátrium benzoát, a timsó, a kálium-szorbát, a kalcium-propionát, a nátrium-hipoklorit, a nátrium-bikarbonát, az alumínium-klorid és a réz-szulfát képes gátolni a *Pca* és a *Pcc* szaporodását *in vitro* körülmények között. A szerves és szervetlen sók hatása annak tulajdonítható, hogy a sókban lévő kationok gátolják a baktérium sejtmembránjában lévő fehérjék funkcióit, az anionok pedig befolyásolják a környezet pH-ját (Mills *et al.*, 2006). Kamysz *et al.* (2005) eredményei szerint egy szintetikus peptid, a Camel (cekropin-melittin hibrid peptid) sokkal nagyobb védelmet biztosít a burgonyagumók számára a *Pca* és a *Dickeya* fajokkal szemben, mint a sztreptomicin.

A kémiai kezelések alkalmazása azért nem egyszerű, mert egyrészt a vegyszernek kapcsolatba kell lépnie a baktériumokkal, melyek általában jól védett helyen vannak a gumó szövetében, a lenticellákban, sebzésekben és az edénnyaláb rendszerben. Egy gáznemű baktériumölő alkalmazása lehet sikeres ilyen szempontból, de könnyen előfordulhat, hogy fitotoxikus hatást vált ki, ahogyan Eckert és Ogawa (1988) is leírta a jelenséget klórgáz esetén. Az egyik lehetőség talán az lenne, hogy a frissen betakarított gumók mosásakor az utolsó öblítés egy hipokloritos oldattal történne, mellyel a felületi fertőzöttséget lehet csökkenteni. Ezt követné egy szárítás, mellyel minimalizálni lehetne a tárolás során fellépő rothadást.

A biológiai védekezés lehetőségeit elsősorban *in vitro* körülmények között tesztelték, ezeket a következőkben szeretném röviden összefoglalni. A talajban élő fluoreszkáló és nem fluoreszkáló *Pseudomonas* fajokról mutatták ki, hogy potenciális antagonistái a szártőrothadást és lágyrothadást okozó baktériumoknak (Kastelein *et al.*, 1999). Ezek a baktériumfajok a burgonya rizoszférájában és a talajban élnek (Loper és Henkels, 1999) és másodlagos antibakteriális anyagcseretermékeket állítanak elő, beleértve a sziderofórokat, antibiotikumokat és felületaktív anyagokat (Cronin *et al.*, 1997; Compant *et al.*, 2005). Cronin *et al.* (1997) használtak olyan *Pseudomonas fluorescens* törzseket, melyek 2,4-diacetylfloroglucinolt termeltek. Ez az anyagcseretermék képes volt a burgonyagumókon jelenlévő *Pca* számát redukálni. Abban az esetben, amikor ennek a törzsnek egy mutáns formáját használták, mely nem rendelkezett ezen anyagcseretermék előállításának képességével, hatástalannak bizonyult a *Pca*-val szemben. Mindez azt jelzi, hogy a biológiai védekezés antibiózisnak köszönhetően következett be. Kastelein *et al.* (1999) szintén arról számoltak be, hogy a burgonyagumók sebzéseinek, repedéseinek védelmére sikeresen használták a *Pseudomonas fluorescens* törzseket abban az esetben, ha a lágyrothadás okozója a *Pca* volt.

A tejsav baktériumok közül a *Lactobacillus plantarum*, a *L. acidophilus*, a *L. buchneri*, a *Leuconostoc spp.* és a *Weissella cibaria* fajok mutattak antagonista aktivitást a *Pcc*-vel szemben, ami annak köszönhető, hogy hidrogén-peroxidot termelnek és elsavasítják a környezetüket. A tejsavbaktériumok általában nemcsak növénypatogéneket képesek gátolni, például a *L. plantarum*, a *W. cibaria* és a *L. acidophilus* a *Botrytis cinerea* gombafajt is képes gátolni. Ráadásul széles növekedési hőmérséklet spektrummal rendelkeznek (8-45 °C), ami széleskörű alkalmazásukat teszi lehetővé (Trias *et al.*, 2008).

Egy másik lehetőség a biológiai védekezésre a Gram-pozitív *Bacillus subtilis*, mely széles antibiotikus hatással bír. Nemcsak a humánpatogén vagy opportunistá baktériumokkal szemben hatásos, hanem növénykórokozókkal szemben is, úgymint a *Pcc*, *Pca* és a *Dickeya* fajok, *Pseudomonas syringae* és a *Xanthomonas campestris* (Sharga és Lyon, 1998). Cladera-Olivera *et al.* (2006) tanulmányoztak egy *Bacillus licheniformis* baktériumfajt, mely hatásos volt a *Pcc*-vel

szemben. Hatását annak köszönheti, hogy egy baktericidszerű anyagot termel, mely kapcsolódik a *Pcc* sejtmembrán lipidjeihez és fokozza annak liáztermelését.

Egy másik elméleti lehetőség lehetne a biológiai védekezésre a bakteriofágok használata. A bakteriofágok olyan vírusok, melyek baktériumokat fertőznek. Specifikusak egy adott mikroorganizmusra, biztonságos a használatuk, mert nem fertőzik a melegvérű szervezeteket. Már korábban kimutatták, hogy a bakteriofágok alkalmasak növényi kórokozók, úgymint *Ea*, *Agrobacterium tumefaciens* elleni biológiai védekezésre (Jones *et al.*, 2007). Ugyanakkor használatuk korlátozott, mivel nem mozgékonyak, és a baktériumok gyorsan ellenállóvá válhatnak velük szemben. Csak a fiatal, osztódásban lévő baktériumsejteket képesek fertőzni. Eddig kevés figyelmet fordítottak a bakteriofágok *Pectobacterium* és *Dickeya* fajok elleni használatára, de Ravensdale *et al.* (2007) üvegházi kísérleteiben sikerült fágokkal 50%-kal csökkenteni a lágyrothadás előfordulását liliomhagymákon *Pcc* fertőzést követően.

A mai napig nincs olyan kereskedelmi készítmény forgalomban, mely alkalmas lenne biológiai védekezésre e kórokozók ellen. Ennek egyik oka a számtalan követelménynek való megfelelési gyakorlat, így a készítmények engedélyeztetése időigényes és roppant költséges.

A baktérium kártételét a higiénias szabályok maradéktalan betartásával, a szántóföldi és tárolási körülmények megfelelő változtatásával csökkenthetjük minimálisra, mivel sem rezisztens burgonyafajták, sem megfelelő vegyszerek nem állnak jelenleg rendelkezésünkre. A fentiek figyelembevételével a következő megelőző jellegű módszerekkel valósulhat meg a védekezés (Németh, 2013):

- ❖ Egészséges, kórokozómentes szaporítóanyag használata. Mindig magas biológiai értékű, fémzárolt gumót ültessünk.
- ❖ Vetésforgó alkalmazása. Ha van rá mód, akkor burgonyát olyan kultúra után ne ültessünk, amely a kórokozó jelentős gazdanövényei közé tartozik.
- ❖ Különösen a korai ültetéskor mindig használjunk fungicideket. Noha azok nem védenek közvetlenül a nedves rothadástól, megakadályozzák a *Fusarium*-ok kártételét, így közvetve gátolják az *Erwinia* fertőzést is.
- ❖ Kerüljük azokat a beavatkozásokat, melyek a gumók mechanikai sérülését eredményezik.
- ❖ Optimális talajadottságok. A vetőgumó ültetése jó szerkezetű és jó vízelvezetésű talajba történjen, ha a talajhőmérséklet az ültetési mélységben elérte a 12-13 °C-ot.
- ❖ Kerüljük a túllöntözést, hogy ezzel is megelőzzük a baktérium szaporodásának és terjedésének kedvező anaerob viszonyok kialakulását. Az esőztető öntözést előnyben kell részesíteni az árasztásos vagy a barázdás öntözéssel szemben.
- ❖ A termesztés higiéniai viszonyai. A fertőzött növényeket azonnal távolítsuk el, hogy a baktérium terjedését, az egészséges egyedek fertőződését megakadályozzuk. A művelő,

betakarító és osztályozó eszközök, valamint a tárolók megfelelő fertőtlenítését mindig biztosítani kell.

- ❖ Betakarítási idő helyes megválasztása. Csak teljesen érett gumókat takarítsunk be. Ha a gumókat a lombozat elhalása után 7-10 napig a talajban hagyjuk, a parásodás végbemegy, a betakarításkor kisebb a gumósérülés veszélye. A betakarításhoz 10-18 °C-os talajhőmérséklet kedvező; a 20-21 °C feletti talajhőmérséklet mellett betakarított gumók nagyon fogékonyak a tárolás során a nedves rothadásra.
- ❖ Kíméletes betakarítás, válogatás, szállítás során a fertőzés egyik forrását jelentő gumó epidermisz sérülések száma jelentősen csökkenthető.
- ❖ Tárolási viszonyok. A betakarítást követően mielőbb hűtsük a gumókat 10 °C-ra, vagy az alá. A tárolás alacsony hőmérsékleten történjen, lehetőleg 1,6-4,5 °C között. A megfelelő szellőzés nemcsak az optimális tárolási hőmérséklet kialakítását szolgálja, de szabályozza a levegő összetételét is, meggátolja a CO₂ feldúsulását, valamint a nedvességfilm kialakulását a gumók felületén. A szórt fényben tárolt burgonya ellenállóbb a nedves rothadásnak, mint a teljes sötétségben raktározott.
- ❖ A gumókat tiszta, klórozott vízzel mossuk meg a feldolgozás vagy csomagolás előtt és amilyen gyorsan lehetséges, szárítsuk meg mielőtt jól szellőző zsákokba, vagy konténerekbe csomagoljuk.

Fentiek betartása elengedhetetlen ahhoz, hogy az *Pectobacterium* és a *Dickeya* fajokkal való fertőzések veszélyét minimálisra csökkentsük, megfelelő minőségű vető-, vagy étkezési gumót állítsunk elő.

2.2.2. Az almát károsító baktériumfaj

Az almatermésű növényfajok „tüzelhalás” betegségét az *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow *et al.* nevű baktérium okozza. Az első írásos feljegyzések a betegségről 1780-ból származnak, amikor azt New York államban egy körteültetvényben észlelték. Burrill 1882-ben publikálta először, hogy az elhalást okozó patogén szervezet a *Micrococcus amylovorus*. Elsőként Joseph C. Arthur végezte el 1884-ben az izolálást, és kísérletben bizonyította, hogy a betegség közvetlen okozója egy baktérium. Az *Erwinia* nemzetség, ill. *Ea* faj megjelölés Winslow *et al.* (1920) nevéhez fűződik, ettől kezdődően a kórokozó neve *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow *et al.*, amelyet 1923-tól az Amerikai Bakteriológiai Társaság hivatalosan is elismert (van der Zwet és Beer, 1995).

A baktériumot a mai napig a világ mintegy 46 országában észlelték. A kórokozót az 1950-es évek végén kezdték el behurcolni szaporítóanyaggal Észak-Amerikából a többi kontinensre; először nyugat Európába (Anglia, 1957) és Észak-Afrikába (Egyiptom).

Európában Szlovénia volt az utolsó „*Erwinia mentes*” ország, míg 2001-ben itt is megjelent elszórtan egy-egy fertőzési góc, majd 2003-ban nagyobb járványról számoltak be (Dreo *et al.*, 2006).

Magyarországon 1995 őszén egy nyárlőrinci almaültetvényben észlelték először a tűzelhalás tüneteit. Dr. Hevesi Mária azonosította az *Ea* karantén baktériumot (Hevesi, 1996). A hazai megjelenés után két évvel a fertőzésmentes megyék száma mindössze Vas és Nógrád megyére korlátozódott (Németh, 1999). A következő járványos évben (2000) 3263 ha alma-, 452 ha körte- és 65 ha birsültetvény volt fertőzött, ami összesen 3780 ha-t tett ki (Pálfi *et al.*, 2000). Mára már egyik megyénk sem mentes a kórokozótól.

Az *Ea* Gram-negatív baktérium az *Enterobacteriaceae* családba tartozik, peritrich flagellákkal rendelkezik. Sejtmérete 1,0-2,5 μm x 0,8-1,2 μm . Fakultatív anaerob, a glükózt aerob és anaerob körülmények között egyaránt képes bontani.

A gyümölcstermesztési szempontból jelentős alma és körte mellett a *Rosaceae* családon belül közel 200 faj gazdanövénye az *Ea* kórokozónak. Gazdanövényei közül kereskedelmi szempontból a *Cotoneaster*, *Crataegus*, *Cydonia*, *Malus*, *Pyrus*, *Photinia*, *Pyracantha* és *Sorbus* nemzetséghez tartozó fajok a legfontosabbak. A tűzelhalás betegsége nemcsak az almatermésű fajokat veszélyezteti. Japán szilva (*Prunus salicina*) fiatal hajtásainak természetes fertőződését már 1993-1994-ben megfigyelték (Mohan és Thomson, 1996).

Németh (1998) adatai szerint a fertőzött magyarországi növényeknek 48,7 %-a birs, 21,6 %-a alma, 15,2 %-a körte, 6,5 %-a naspolya, 4,3 %-a galagonya és 3,5 %-a egyéb növény. A birsek szokatlanul magas fertőződési aránya nem csupán a faj extrém fogékonyságának tulajdonítható, hanem a kései virágzásnak, amikor a hőmérsékleti viszonyok már optimálisak a kórokozó felszaporodásához. Így a virágfertőzéshez a virágzás teljes időszakában rendelkezésre áll a megfelelő inokulum.

A fertőzéseket elsődleges és másodlagos fertőzési ciklusokra lehet bontani (van der Zwet és Keil, 1979).

A betegség kifejlődése tavasszal, kedvező körülmények esetén veszi kezdetét, amikor a fertőzött fás szövetekben vagy a fekélyes sebek szélén, az egészséges szövetek határán áttelelő baktériumok szaporodni kezdenek. Mikor megindul a nedvkeringés, a felszaporodott baktériumok tömege baktériumnyálka formájában a felszínre tör. A sebekből szivárgó nedvben a baktériumsejtek milliárdjai vannak jelen, melyek rovarokkal, madarakkal, metszéssel,

csapadékkal és a széllel terjednek. A virágok szöveteibe a kórokozó a természetes nyílásokon (a nektárium kiválasztó nyílásai, bibe, portok természetes nyílása, csészelevelek légrései) keresztül jut be. A virágfelületen a fertőzés hatására megjelennek a baktériumnyálka cseppek, amelyekből az esőcseppek és a viráglátogató beporzó rovarok terjesztik tovább a baktériumsejteket. A baktérium a fertőzött pollennel is terjed. A kórokozó a sejtközzötti járatokban szaporodik. A virágzatból a virágkocsányon át a vesszőkbe majd az ágakba hatol. Itt az időjárástól és a szövetek fogékonyságától függően halad előre, majd végül kialakulnak a fekélyes sebek.

Az elsődleges fertőzés során keletkező inokulumtömeg a fenológiai fázistól, valamint az időjárási körülményektől függően a másodlagos fertőzés útján további fertőzéseket idéz elő. A másodlagos fertőzések a vegetációs időben bármikor bekövetkezhetnek. Fertőzési forrás lehet a hajtásokon, leveleken, gyümölcsökön és nagyobb ágakon keletkező baktériumnyálka, illetve a megszilárdult nyálkaanyag által összeragasztott baktériumsejtekből létrejött úgynevezett fonalas struktúra is.

A baktériumfonalak a szél segítségével nagyobb távolságokra is eljuthatnak. Másodlagos fertőzésre különösen érzékenyek a másodvirágzatok és a növekedésben levő hajtások. A zsenge hajtások fertőződése a sebzéseken és a természetes nyílásokon egyaránt végbemehet. Minél idősebb növényi szövet felé halad a fertőzés, annál lassabb a szaporodása. A már befásodott hajtásban a baktérium szaporodása megáll. Az éves folyamat végén a fertőzött szövetek elhalnak, és kialakulnak a rákos sebek. Ekkor a baktériumsejtek nagy része elpusztul, az életben maradt sejtek azonban áttelelnek, és tavasszal újabb fertőzési forrásként szolgálnak.

A kórokozó terjedése eső- és öntözővíz, rovarok, virágpor, szél, vándormadarak útján, az emberi tevékenységgel kapcsolatosan pedig szaporítóanyag, árugyümölcs és művelőeszközök útján terjed (Németh, 1997).

Baktérium nyálkacseppek a növény bármely részén megjelenhetnek. A friss nyálkacseppek tejfehérek és hígán folyósak, ezzel szemben a régi cseppek sűrűn folyósak vagy akár szilárdak, színük a sárgás krémszínűtől a sötétbarnáig terjed. Megfigyelések szerint a friss exudátum a meleg, párás napok után jelenik meg és gyakran csak a reggeli órákban, harmat vagy magas légnedvesség esetén látható (Richter, 1999). A beszáradt nyálka fonálszerű, a rajta lévő baktériumsejtek következtében fertőzőképes. A beszáradt fonalakat a szél terjeszti. Az eső mind a primer, mind a szekunder fertőzés kialakulásában felelős lehet. Az esőcseppek egyrészt lemosják a növény felületén lévő epifiton formában lévő vagy baktériumnyálkában lévő kórokozót a fa alacsonyabb részeire, másrészt viharos időben a szél további gazdanövényekre szállítja a vízcseppekben lévő inokulumot. Az esőztető öntözés kórokozót terjesztő hatása is ezen az elven alapul. Az eső indirekt hatása a betegség kialakulásában úgy nyilvánul meg, hogy a

baktérium szaporodását gátló tömény nektárt felhígítja, így optimális közeg alakul ki a baktérium szaporodásához (van der Zwet, 1979, Hevesi *et al.*, 2004).

A fertőzésre kedvező körülmények a virágzás kezdetén, valamint az intenzív hajtásnövekedés időszakában akkor vannak, amikor a napi középhőmérséklet magasabb, mint 18 °C, a napi csapadék több mint 2,5 mm, a relatív páratartalom pedig 70% felett van. Mivel a virágzáskori fagyok mikrosérüléseket okoznak a virágzaton, ezért azok is elősegíthetik a fertőződést (Németh, 1997).

Kora tavasszal a fekélyes sebekből származó nagy cukortartalmú baktériumnyálkát látogató rovarok széthurcolják az inokulumot, de a virágra csak ritkán kerül ilyen módon a kórokozó. A méhek a másodlagos terjesztésben vesznek részt, amikor is a fertőzött virágról az újonnan kinyílt virágokra szállítják a kórokozót (Thomson, 2000). A vándormadarak az elfogyasztott fertőzött gyümölcscsel, illetve ürülékükkel és a testükre tapadt baktériumnyálkával terjesztik a betegséget.

A tűzelhalás jellegzetes tüneteit könnyű felismerni és megkülönböztetni, mivel nem hasonlítanak más növényi betegségtünetekhez. A baktérium fejlődése követi a gazdanövény évszakhoz kötött életritmusát, ezért tüneteinek megjelenése is ciklikus. A betegség jellegzetes tüneteit van der Zwet és Keil (1979) írta le. Mivel a kórokozó valamennyi növényi részt képes megtámadni, ezért a tüneteket is ennek megfelelően csoportosíthatjuk.

A vegetáció során először a virágelhalást előidéző tünetek jelennek meg 1-2 héttel a szíromhullást követően. A fertőzött virágszövet először vízzel átitatott lesz, majd szürkészöld megjelenésű, később hervadni kezd, majd elszárad és barnás-feketén elhal. A csészeleveleken, virágkocsányokon is megfigyelhetők a vízzel átitatott foltok, meleg, párás időben rajtuk a betegségre jellemző baktériumnyálka (exudátum) jelenik meg. Ezek a nyálkacseppek kezdetben krémes fehér színűek, majd idővel egyre borostyánabb színezetet öltenek (Johnson, 2000). Exudátum képződés hiányában a virágzat megbetegedése csak a virágzás után állapítható meg egyértelműen, mert a fertőzött, megbarnult, megfeketedett virágok és terméskezdemények a fán maradnak. A virágzaton kiváló exudátumcseppek egyben a hajtás fertőzésének is forrásai.

A hajtás- és levélelhalás a betegség leginkább jellemző tünete, mely a virágfertőződéshez hasonló azzal a különbséggel, hogy a fertőzés sokkal gyorsabb, akár 15-30 cm/nap sebességgel is terjedhet a hajtásban látható tünetek kialakulása nélkül és különösen kedvező időjárás esetén (meleg, párás) a napi 50-70 cm-t is elérheti. A hajtások a csúcs vagy az alap felől szisztemikusan fertőződnek. A virágzás utáni intenzív hajtásnövekedési periódusban a fertőzött, még nem fásodott hajtásvég pásztorbotszerűen visszagörbül, a levelek megbarnulnak, de nem hullanak le (6. ábra). Optimális időjárási körülmények között a hajtáson baktériumnyálka cseppek jelennek meg. A vegetáció későbbi szakaszában, amikor a növények növekedése erősen lelassul, a fertőzés csak a hajtások végére korlátozódik, és a már megfásodott hajtásvégek pásztorbotszerű

meghajlása nem következik be. A hajtás- és levélelhalásnak köszönhetően a fa olyan benyomást kelt, mintha megégett volna, innen ered a tűzelhalás elnevezés.



6. ábra. Fertőzött alma hajtáscsúcson kezdődő elszíneződés és a levélnyel felől terjedő levéllemez elhalás (Fotó: Bubán Tamás)

A fiatal és a kifejlett gyümölcsökön hasonló a betegség megjelenése. A fertőzött gyümölcsök vizenyősek lesznek, rajtuk nyálkacseppek jelennek meg, majd megbarnulnak és végül teljesen megfeketednek. A mumifikálódott termések a fán maradnak, vagy lehullanak. Az érett gyümölcsök a bőrszövet paraszemölcssein, sérülésein, valamint a fertőzött vesszőből, gallyból a kocsányon keresztül egyaránt fertőződhetnek.

A fa törzsén és ágain a vegetáció második felére a fertőzések hatására besüppedt kéregelhalások, fekélyes sebek alakulnak ki, melyek a kórokozó áttelelését szolgáltatják. Az ágakban és a törzsekben gyorsan előrehaladó fertőzés hatására a felületen bőséges exudátum válhat ki, amely végigfolyik az ág és a törzs felületén. Az egészséges és beteg felületek határán a kéreg rendszerint felreped. Az ágak kérgének eltávolítása után a fás részen gyakran jellegzetes vörösesbarna csíkozottság is megfigyelhető.

A tűzelhalásnak ez a két típusa a legveszélyesebb és gyakran okozza az egész fa pusztulását. A fertőzés a gyökérnyakból jut a gyökerekhez, de az is előfordul, hogy ez az irány fordított. A fertőzés a fiatal sarjhajtásokból, az egyéb föld feletti fa részekből az edénnyalábrendszeren keresztül szisztémikusan lejutó vagy a fakoronából az ág és a törzs felületéről lemosódó baktériumok okozzák.

Az *Ea* elleni védekezés nagyon nehéz és drága, ezért igen fontos a vele szemben toleráns fajták termesztésbe vonása olyan termőhelyeken, ahol a kórokozó veszélyes lehet. A védekezés első és legfontosabb lépése – a megelőzésen túl - a betegség korai felismerése. Ezen felül az eredményes védekezés záloga a különböző módszerek (agrotechnikai elemek, növényegészségügyi rendszabályok, rezisztens és toleráns fajták termesztése, kémiai és biológiai védekezés) együttes, integrált módon való alkalmazása.

A védekezési lehetőségeket a következőképpen lehetne összefoglalni:

Az **előrejelzési módszereket** illetően a növényvédőszeres kezelések hatékonysága szempontjából kulcsfontosságú szerepe van az időzítésnek. Megfelelő hatásuk csak az időben elvégzett kezeléseknak van. A jelenleg ismert előrejelzési módszerek közül Európában a Billing-féle (Firescreens) modell terjedt el, mely a kórokozó napi szaporodási ütemére épülő becslésen és a csapadék mérésén alapul. A másik módszer a Marybylt rendszer, ami viszont az időjárási adatokat veszi figyelembe (Sobiczewski et al., 1997). Ezt a rendszert alkalmazzák hazánkban is.

Szaporítóanyag előállítás, forgalmazás esetén alapvető követelmény a fertőzésmentesség. A **növényegészségügyi rendszabályok** a betegség bármilyen formában történő behurcolását igyekeznek megakadályozni. A betegség bejelentés köteles, azaz fellépése vagy annak gyanúja esetén értesíteni kell a területileg illetékes mezőgazdasági szakigazgatási hivatalt. A hatóság zárlati intézkedéseit maradéktalanul be kell tartani (Németh, 1997).

A védekezés **agrotechnikai módszerei** közül a következőket emelném ki Németh (1997) alapján:

- ❖ Kerüljük a mély fekvésű, tápanyagban szegény, rosszul szellőző, nehéz és savanyú talajjal rendelkező területeket.
- ❖ Figyelembe kell venni a fajok és fajták közötti fogékonyságbeli különbségeket.
- ❖ Kerüljük a túlzott nitrogéntrágyázást, mert az elősegíti az intenzív hajtásnövekedést, ezáltal meghosszabbítva azt az időszakot, amikor a növények egyébként is fogékonyak a fertőzésre.
- ❖ Metszést kizárólag nyugalmi időben végezzünk, kerüljük a túlzott visszavágást, ami ugyancsak kedvez az intenzív növekedésnek.
- ❖ Metszés során az áttelelő fekélyes sebekkel rendelkező gallyakat, ágakat távolítsuk el.
- ❖ Fertőzött állományban kerüljük a nyári zöldmetszést, de ha ez elkerülhetetlen, a metszőolló rendszeres fertőtlenítése szükséges.
- ❖ Fertőzött hajtást 40-60 cm hosszú egészséges résszel együtt kell eltávolítani.
- ❖ Az eltávolított részeket elégetéssel minél előbb semmisítsük meg.

Vegyszeres kezeléseknél elsősorban rézkészítmények és elméletileg antibiotikumok jöhetnek szóba. A rézkészítmények közül leggyakrabban a réz-hidroxid, a réz-szulfát és a rézklorid hatóanyagú szereket használják (Sobiczewski *et al.*, 1997). A rézvegyületek alkalmazása során figyelembe kell venni, hogy virágzási időszakban fitotoxikus hatást fejthetnek ki. Érdemes a készítményekkel tél végi, lemosó permetezéssel védekezni.

A tűzelhalással szemben a leghatékonyabb módszer az antibiotikumok használata volt. A szerzett antibiotikum rezisztencia azonban a kórokozó baktérium populációjában eleinte lokálisan, később kiterjedtebb gondot okoz. Ez a tény korábban nagyhatású antibiotikum gyakorlatból történő kiszorulásához vezetett. Sajnos egyértelműen bebizonyosodott, hogy az antibiotikumok agronómiai célú felhasználása során a rezisztencia gyorsan kialakulhat (Sholberg *et al.*, 2001). Az antibiotikumok közül a sztreptomicin az Amerikai Egyesült Államokban virágzáskor és intenzív hajtásnövekedéskor használatos. Tapasztalatok szerint 6 év használat után alakult ki az antibiotikum rezisztencia, viszont sztreptomicin rezisztens *Ea* törzseket már Új-Zélandon is találtak (Sobiczewski *et al.*, 1997). A sztreptomicint az Európai Unió több országában betiltották, így hazánkban is elsősorban humánegészségügyi okok miatt.

A kasugamycin hatóanyagú Kasumin 2L Magyarországon 1997 óta engedélyezett növényvédő szer volt. Sobiczewski (1997) szerint a készítmény alma és körteültetvényekben fitotoxikusnak mutatkozott, használata ezért csak faiskolában és egyes dísznövényeknél ajánlott. A Kasumin 2L virágzáskor és a későbbiekben is fitotoxikus lehet: szíromperzselést, levélperzselést okozhat (Halmágyi, 1997). A Kasumin 2L hazánkban csak eseti engedélyezés mellett használható.

Egyéb készítmények közül hazánkban a fozetil-Al hatóanyagú Aliette 80 WG – a Kasuminhez hasonlóan – szabad forgalmi kategóriájú szer. Larue és Gaulliard (1993) szerint az Aliette a rézkészítményeknél jobb, a sztreptomicinnel esetenként azonos hatékonyságú. Más szerzők a fenti megállapítást cáfolják (Hevesi, személyes közlés).

Szisztemikusan szerzett rezisztenciát indukáló szerek közül a Prohexadione-Calcium (Regalis) növekedésgátló anyagot, valamint a Bion 50WG nevű növényaktivátort említeném meg, melyek több esetben is hatékonynak bizonyultak az *Ea* elleni küzdelemben. A Prohexadione-Ca az *Ea* szaporodását *in vitro* nem befolyásolta ugyan, de miután a betegség kifejlődésére gátló hatású, ezért feltételezik (Roemmelt *et al.*, 1998), hogy szintén szisztemikusan szerzett ellenállóképességet indukál. Hazai kísérletekben Bubán és munkatársai (2006) *in vitro* virágfertőzésekben szintén hatásosnak találták ezeket az indukált rezisztenciát fokozó szereket.

A **biológiai védekezés** kidolgozására az *Ea* esetében közel két évtizede zajlanak kutatások antagonista, epifiton baktériumok alkalmazásával. Ezek hatása gátló anyagok termelésén és a

tápanyagokért folyó versenyen alapul, ezért kijuttatásuknak már a kórokozó megjelenése előtt meg kell történnie. Az antagonista baktériumoknak a sebfelületen és a virágok nektáriumainál kell lennie, mielőtt a kórokozó odajutna.

A *Pseudomonas fluorescens* az egyik leggyakrabban vizsgált epifiton baktériumfaj, melynek egyes törzsei hatásosnak bizonyultak a baktérium elleni védekezésben. Az A506-os törzse kísérletekben csökkentette a fagykárt és a tűzelhalás tüneteit az USA -ban szabadföldi kísérletben (Lindow *et al.*, 1996) és Új-Zélandon is (Vanneste, 2006). A *P. fluorescens* A506 törzséből kereskedelmi forgalomba hozott terméket is előállítottak: Blightban A506[®], melyet az éppen kinyílt virágoknál érdemes kipermetezni (Elkins *et al.*, 2005).

A *Pantoea agglomerans* (syn. *E. herbicola*) egy antibiotikumot termelő baktérium, amely specifikusan hat az *Ea*-ra és a kórokozót elpusztítja (Vanneste, 1996; Johnson és Stockwell, 1998; Al-Arabi, 2002; Özaktan és Bora, 2006). A *Pantoea agglomerans* hatásosnak bizonyult törzseiből (P10c) kereskedelmi forgalomban lévő készítmény is készült BlossomBless[™] (Új-Zéland) és PomaVita[™] (Olaszország) (Vanneste, 2006). A Hevesi Mária által izolált *P. agglomerans* HIP 32-es törzse *in vitro* kísérletben szintén erősen gátolta az *Ea* szaporodását (Hevesi *et al.*, 2006).

Bacillus subtilis törzsek vizsgálata során derült fény arra, hogy hatásosak több kórokozó-, így az *Ea* elleni védekezésben is. Ugyancsak leírták *Photorhabdus* és *Xenorhabdus* fajok erős antibakteriális hatását (Böszörményi *et al.*, 2009). Fontos azt tudnunk, hogy az antagonista baktériumok használatával a kórokozót nem pusztítjuk el, csupán annak felszaporodását gátoljuk (Németh, 1997).

A bakteriofágok használata sem elhanyagolható a tűzelhalás elleni védekezésben. Svircev *et al.* (2005) végeztek vizsgálatokat az *Ea* bakteriofágjaival. Szabadföldi kísérletben jutattak ki fágokat körtevirágokra. Hordozóként *Pantoea agglomerans* használtak, melynek az antagonista szerepe is fontos szempont volt. Ez a kombináció egyértelműen hatékonynak bizonyult. Hazai kutatók is vizsgálták a bakteriofágokban rejlő lehetőségeket. Schwarzing *et al.* (2011) fertőzött körte-, alma- és birsszövetekből izoláltak fágokat, melyekkel almavirágokat kezeltek *Ea* fertőzés előtt. Ugyanakkor táptalajon is tesztelték a fágok hatékonyságát. Tapasztalataik szerint a bakteriofágok mind a virágokon, mind pedig a táptalajon visszaszorították a kórokozó baktérium szaporodását. Kolozsvári Nagy *et al.* (2012) hazai *Ea* törzsekből izoláltak bakteriofágokat, amelyek nem csak hazai törzseket voltak képesek fertőzni. Hazai vonatkozásban meg kell említeni az Erwiphage elnevezésű bakteriofágokat tartalmazó növényvédőszert, mely 2014-ben március 15-től rendelkezik 75 napos, ideiglenes felhasználási engedéllyel az almatermésű kultúrákban.

Az **ellenálló fajták termesztése** jelentheti a legjobb megoldást. A tűzelhalás kórokozójával szembeni ellenállóságra való nemesítésre nagy erőfeszítések történtek, ennek ellenére a gyakorlatban termesztett toleráns fajták száma korlátozott. A fajták szinte mindegyikét képes a baktérium megfertőzni, egy részük azonban különböző mértékben tűri azt, vagyis a tünetekben és termés kiesésben megnyilvánuló jelentős negatív hatás nem érvényesül.

Az egyes gyümölcsfajok és fajták fogékonyságáról az irodalomban eltérő közléseket is találunk. Ennek egyik oka lehet a különböző klimatikus körülmények, a fertőzési és értékelési módszerek sokfélesége, a baktériumtörzsek eltérő virulenciája (Hevesi *et al.*, 2000) és az a tény, hogy az egyes növényi szervek fogékonysága gyakran különböző (Fischer és Schaefer 1990, Fischer és Fischer 1994, Berger és Zeller, 1994).

Mowry (1964) Illinois államban 203 almafajta fogékonyságát vizsgálta. Ötéves fáknál a legkevésbé volt fogékony pl. a 'Starkimson Delicious', mérsékelten fogékony volt pl. a 'Golden Delicious', fogékonyak pl. a 'Mutsu', a 'Jonathan' és 'Idared' mutatkozott.

Le Lezec *et al.*, (1984, 1987) vizsgálatai során a varasodásrezisztens almafajták 'Prima', 'Florina', 'Liberty' tűzelhalás-rezisztensnek bizonyultak. Rezisztens tüneteket mutatott még a 'Smoother', a 'Golden Delicious', és a 'Mutsu', mérsékelten rezisztens volt a 'Gala' és a 'Granny Smith'.

Németországban 1974-ben kezdődtek a rezisztencianemesítések. A rezisztens szülők utáni kutatások során a külföldi rezisztens fajták eltérő eredményeket mutattak. Magas rezisztenciájú volt az 'Enterprise' (USA) és a 'Selenia' (CZ), mérsékelten rezisztens a 'Florina' (F) és a 'Nabella' (CZ). Mérsékelten vagy erősen fogékonyak bizonyult az 'Otava', 'Rayka', 'Zuzana', 'Delorina', 'Vanda', 'Freedom', 'Lotos', 'Ecolette', 'Produkta', 'Topaz', 'Rosana', 'Dayton', 'Prima', 'Priscilla' (Fischer és Richter, 1999). A legveszélyeztetettebb fajták, pl. a 'Gloster', az 'Elstar', a 'Gala', a 'Rubinette', a 'Jonagold' és az 'Idared'.

A németországi nemesítések során szülőfajtaként magas rezisztenciafokú almafajtákat és nemesítési törzseket használtak fel diallélos keresztezésben, topcross-ban és visszakeresztezésben. A legtöbb tűzelhalás-rezisztens szülőfajta a *Malus floribunda* keresztezéséből származik. A tűzelhalással szembeni rezisztencia az utódokban növelhető azáltal, hogy mindkét, a keresztezésben részvevő szülőfajta rezisztens. A tűzelhalás-rezisztencia megoszlása az utódnemzedékekben megmutatta, hogy a tűzelhalás-rezisztencia genetikailag poligén. A tűzelhalás estében nem lép fel juvenilis fogékonyság, mint az az almálsztharmatnál ismert. A rezisztens x rezisztens keresztezés utódnemzedéke magas rezisztens arányt eredményezhet. A „Re” fajták különösen erős fertőzési körülmények között is jó rezisztencia-stabilitással rendelkeznek (Fischer és Schaefer, 1990; Fischer és Fischer, 1994). A „Re” fajták között ígéretesek a tűzelhalással szemben rezisztens 'Reanda', 'Rewena', ill.

mérsékelt rezisztens 'Realka', 'Rebella', 'Regia', 'Regine', 'Reglindis', 'Releika', 'Remo', amelyek varasodással és lisztharmattal szemben is rezisztensek (Fischer és Fischer, 1994; Fischer, 2004). A rezisztenciát mutató vad fajok nemesítésben való felhasználásával a kedvező tulajdonságok mellett a kedvezőtlen tulajdonságok is megjelennek az utódokban (rossz gyümölcsminőség) (Baumgartner *et al.*, 2012).

A Budapesti Corvinus Egyetem Gyümölcstermő Növények Tanszékén a multirezisztenciára irányuló almanemesítési kutatások egy része volt a Kárpátaljáról származó, történelmi almafajták tűzelhalással szembeni ellenállóképességének vizsgálata. A fogékonyság vizsgálatok során a fajták többsége mérsékelt vagy nagyon fogékonynak bizonyult. Mérsékelt rezisztens volt a 'Szemes alma', 'Pónyik alma', 'Sikulai', 'Batul', 'Zöld sóvári' és a 'Vilmos renet' (Kása *et al.*, 2003, Tóth *et al.*, 2005). A virág- és hajtásfertőzés eredményei alapján kiemelhetők a 'Szabadkai szercsika' és a 'Tordai piros kálvil' fajták, melyek a rezisztencianemesítési programokban génforrásnak javasolhatók (Tóth *et al.*, 2013a). A kiváló hajtásellenállósággal, de mérsékelt virágfogékonysággal rendelkező 'Sikulai' és a 'Pónyik' a gombás betegségekkel szemben sem volt fogékony, ill. a gyümölcs minősége is jó volt, ezért ezek nem csak nemesítési génforrásként, hanem ökológiai termesztésben is felhasználhatók (Tóth *et al.*, 2005, 2013a). A BCE Gyümölcstermő Növények Tanszéken a 'Prima' szülőfajtaként való felhasználásával is sikerült a toleranciát, illetve rezisztenciát az utódokba átvinni, s az egyéb betegségekkel szembeni ellenállóképesség, valamint a gyümölcsminőség értékelése alapján perspektivikus hibridek kiemelésére került sor (Tóth, 2005). Ennek a nemesítési munkának az eredményeként 2011-ben és 2012-ben államilag elismert fajta lett az 'Artemisz', a 'Cordelia', 'Hesztia' és a 'Rosmerta' (Tóth *et al.*, 2012).

A termesztett almafajták szortimentjében rendelkezésre álló rezisztenciadonorok mellett a vad fajokban is találtak olyan génforrásokat, amelyek a rezisztenciát hordozzák. Amerikai kutatások szerint a különböző *Malus* fajok, mint a *Malus robusta* és a *Malus sublobata* meglehetősen rezisztensek a tűzelhalással szemben. Ezeket a tulajdonságokat használták fel, pl. Genévában, New Yorkban új almaalanyok nemesítéséhez (Oberhofer, 1993).

A több éves tapasztalat alapján látható, hogy a védekezés csak integrált módszerek együttes alkalmazása mellett valószínűsíthető meg, de a fertőzés teljesen nem szüntethető meg, csak a kártétel mértéke csökkenthető. Az integrált eljárások egyik fontos tényezője a fajták rezisztenciájának ismerete. A tűzelhalással szembeni harcban is az egyik legfontosabb tényező a gazdanövény fogékonysági szintjének ismerete.

2.3. Kiemelések a növényi stresszfolyamat ismeretköréből és a növények antioxidáns védelmi rendszeréből

A növények, az összes többi élőlényhez hasonlóan, számtalan környezeti hatásnak vannak kitéve életük során. Ezek lehetnek abiotikusak (szárazság, hőmérsékletváltozás, erős fény, tápanyaghiány stb.) és biotikusak (kórokozókkal történő fertőződés) is. E hatások gyakran az optimális életkörülményektől kisebb-nagyobb mértékben eltérőek lehetnek (környezeti stressz), ezzel alkalmazkodásra késztetve a helyhez kötött életmódot folytató növényeket.

A stressz kifejezés elsőként Selye János endokrinológus használta. Meghatározása szerint a stressz az élőlény válaszát, míg a stresszor a környezeti hatást jelöli. A stresszor hatására jelentkező tünetegyüttes pedig az adaptációs szindróma (Selye, 1975).

Larcher (1987) a növényekre vonatkozóan következőképpen fogalmazta meg a stressz definícióját, mely tulajdonképpen a Selye által megfogalmazott általános adaptációs szindróma leírása: „A stressz egy olyan terheléses állapot, amelyben a növényvel szembeni fokozott igénybevétel a funkciók kezdeti destabilizációját követően egy normalizálódáson át az ellenállóság fokozódásához vezet, majd a tűréshatár túllépésekor tartós károsodást vagy akár pusztulást is okoz.” Ez tulajdonképpen a Selye által megfogalmazott általános adaptációs szindróma leírása. A potenciálisan káros tényezőket, melyekre a növény valamely élettani folyamatának a megváltoztatásával válaszol, stresszfaktoroknak vagy stresszoroknak nevezzük, az általuk létrehozott körülmények pedig a stresszhatások.

Szigeti (1998) szerint a stressztényezőket többféle szempont szerint csoportosíthatjuk: kiegészítve az abiotikus és biotikus stresszt antropogén vagy természetes környezeti eredetű stresszhatásokkal. A stressz erősségének mértéke alapján megkülönböztetünk distresszt, mely tűréshatárt meghaladó mértékű stressz, és a szervezet károsodásával, illetve pusztulásával jár, másrészt van az eustressz, mely gyengébb hatású, elviselhető mértékű stressz, ami védekezésre ösztönzi az adott élőlényt.

A növényeket érő stresszhatások következtében anyagcsere változások jönnek létre. Szinte valamennyi típusú stressz esetében az egyik legjellegzetesebb válasz a reaktív oxigénformák (ROS= reactive oxygen species) képződése és a sejten belüli oxidatív mikrokörnyezet kialakulása (Baker és Orlandi, 1995; Bestwick *et al.*, 1997; Stefanovits-Bányai, 2008).

Míg a molekuláris oxigén nem reakcióképes vegyület (Cadenas, 1989), addig az oxigén reaktív formái annál inkább. A legfontosabb ROS-ok a következők: a **szinglet oxigén** ($^1\text{O}_2$) nem rendelkezik párosítatlan elektronnal, de reakcióképessége miatt mindenképpen ide sorolandó. Egy elektron felvételével **szuperoxid gyök** (O_2^-) keletkezik a molekuláris oxigénből. A reakció

lejátszódásához energiára van szükség, melyet az élő rendszerekben a nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát (NADPH) szolgáltat. Egy proton felvételével a szuperoxid anion **hidroperoxil gyökké (HO_2^\cdot)** alakul át, vizes oldatban pedig **hidrogén-peroxidot (H_2O_2)** képez. A hidrogén-peroxid viszonylag stabil, elektromosan semleges, így képes áthatolni a membránokon. A legreakcióképesebb oxigénforma a **hidroxil gyök (HO^\cdot)**, mely erősen oxidatív tulajdonságú vegyület. Jelentős mennyiségben az átmeneti fémek – vas (Fe^{2+}) és réz (Cu^+) oxidációja során keletkeznek. Annak ellenére, hogy ezek toxikus gyökök/molekulák és károsan hatnak a nukleinsavakra, fehérjékre és lipidekre, a növényekben számos élettani folyamat szabályozásában részt vesznek (Mittler, 2002).

Az oxidatív stressz egy olyan sejtállapot, amelyben a ROS koncentrációja megemelkedik. Egy egészséges növényi sejtben ROS-k kismértékben folyamatosan keletkeznek. Az oxidatív stressz akkor alakul ki, amikor a sejt antioxidáns védelmi rendszere és az oxidatív körülményeket kiváltó mechanizmusok egyensúlya felborul (Smirnoff, 1998; Apel és Hirt, 2004; Diaz-Vivancos *et al.*, 2006).

A különböző káros oxigénformák sejtkárosító hatásának kivédése az antioxidáns rendszerek feladata a növényekben (Vanacker *et al.*, 1998). Az enzimatis és nem-enzimatis antioxidánsok mennyisége és aktivitása jelentős mértékben változik a növény fejlődése során, összefügg annak élettani állapotával (Barna, 1995; Barna *et al.*, 2003).

Alapvető különbség van azonban a különböző típusú stresszorok között: a biotikus stressz megnyilvánulása kezdetben lokális, csak a fertőzés helyén lévő sejtek anyagszerjét érinti, majd fokozatosan terjed ki az egész növényre. Az abiotikus stressz ezzel szemben egyszerre fejti ki hatását a teljes növényi szervezetre. A káros oxigénformák termelődése számos gazda-parazita kapcsolat, valamint abiotikus stressz által előidézett folyamat során fokozódik. A kórokozók fertőzése olyan növényi enzimek (sejtmembránban NAD(P)H-oxidáz, sejtfalhoz kötött peroxidázok) működését indukálja, amelyek szuperoxidot és hidrogén-peroxidot termelnek. Nagy mennyiségű ROS termelődést mutattak ki pl. a paradicsom esetében fuzárium fertőzés esetén (Mandal *et al.*, 2008), a szezámnál alternária fertőzésnél (Lubaina és Murugan, 2012). A ROS formáknak közvetlen antimikrobiális hatása van, mely csökkenti a patogének életképességét (Fang, 2011).

Az antioxidáns rendszer felosztható enzimatis és nem enzimatis részre. A legfontosabb enzimatis antioxidánsok a szuperoxid-dizmutáz (SOD), a peroxidáz (POD), a kataláz (CAT), aszkorbát peroxidázok (APX), és a glutation-reduktáz (GR), stb. A védelmi rendszer nem enzimatis részét vízzoldékony és lipiddoldékony antioxidáns vegyületek alkotják, úgymint glutation, aszkorbinsav, β -karotin, α -tokoferol, polifenolos vegyületek, E-vitamin stb. (Pandhair és Sekhon, 2006).

A káros oxigénformák elleni védelem első vonalát a **szuperoxid-dizmutázok (SOD)** jelentik, melyek a citoszólban, peroxisómákban és kloroplasztiszokban lokalizálódnak. Az enzim a szuperoxid dizmutációját katalizálja, mely során hidrogén-peroxid jön létre, ami egy viszonylag stabil reaktív oxigénforma. Emiatt a többi ROS rövid időn belül hidrogén-peroxiddá alakul (Allan és Fluhr, 1997). Elektromosan semleges és kevésbé reaktív, ezért képes áthatolni a membránokon, így keletkezési helyéről más sejtekbe vándorolhat.

A növényi **peroxidázok (POD)** protohem prosztetikus csoportot tartalmazó, glükoprotein enzimek. *In vivo* többek között különböző fenolokat, fenolszármazékokat oxidálnak, *in vitro* aktivitásmérésekhez pedig számos vegyület alkalmazható, például az ortodianizidin vagy a gvajakol. A legszélesebb körben alkalmazott vegyület miatt gvajakol-peroxidáznak is nevezik az ebbe a csoportba tartozó enzimeket. Számos élettani funkciójuk ismert (Asada, 1992), többek között részt vesznek a lignin bioszintézisében (Gross, 1978), az etilén képződésében, az indol-ecetsav bomlásában (Salin, 1987). Jelentős szerepük van az öregedési folyamatokban (Wyen *et al.*, 1971). Megtalálhatók a vakuólumban, a sejtfalban, a citoszólban és az apoplasztban; a sejtszervecskében viszont – így többek között a kloroplasztiszban – nem. Élettani szerepüket az abiotikus és biotikus stresszhatások elleni védelemben több kutató is leírta (Stefanovits-Bányai *et al.*, 1998; Szecskó *et al.*, 2002.; Sárdi és Stefanovits-Bányai, 2006; Honty *et al.*, 2005).

Rudolph és Stahmann (1964) már 50 évvel ezelőtt megállapította, a *Pseudomonas phaseolicola* baktériummal végzett kutatásai során, hogy a peroxidáz aktivitás nagyobb növekedést mutat a rezisztens babfajtákban, mint a fogékony fajtában virulens törzzsel való fertőzés esetén. Vizsgálataik során arra a következtetésre jutottak, hogy a fokozott peroxidáz aktivitás kedvez a kórokozóval szembeni rezisztencia kialakításához.

A későbbiekben számos kutatás támasztotta alá ugyanezt az eredményt, miszerint a biotikus stressz hatására a fertőzést követően az antioxidáns enzimek aktivitása – köztük a peroxidázé is – általában megemelkedik (Jang *et al.*, 2004; Djelabi *et al.*, 2007).

Az oxidatív stressz elleni védekező mechanizmus része az aszkorbát–glutation ciklus. Mivel a kloroplasztiszokban nincsen katalázaktivitás, ezért az ott keletkező hidrogén-peroxid az aszkorbát–glutation ciklus során semlegesítődik. Ebben a ciklusban jelentős szerepet tölt be a **glutation-reduktáz (GR)** enzim, mely az oxidált glutationt redukálja vissza. Stressz hatására megemelkedő aktivitását már leírták (Noctor és Foyer, 1998).

Az **aszkorbát-peroxidázok (APX)** vastartalmú fehérjék. Többek között a hidrogén-peroxid vízzé alakulásában van szerepe. Megtalálható a citoszólban és a kloroplasztiszban, ahol a fő hidrogén-peroxid lebontó enzim (Asada, 1992).

A **kataláz (CAT)** négy alegységből álló, hem prosztetikus csoportot tartalmazó enzim, mely a hidrogén-peroxid bontását katalizálja. A kataláz az egyik legjelentősebb hidrogén-peroxidot

semlegesítő enzim a növényekben, amely a peroxiszómákban, a glioxiszómákban és – kukorica esetében – a mitokondriumokban található (Salin, 1987; Scandalios, 1990).

A rezisztencia kialakulásában még számos más vegyületnek és anyagcsereterméknek (pl. szalicilsav, benzoésav, stb.) is fontos szerepe van, de dolgozatomban már csak egy vegyületcsoportra szeretnék kitérni, a szénhidrátokra.

A stresszhatásokra adott növényi válaszok közül a szénhidrátfrakciók minőségi és mennyiségi változásai fontosak, mivel a szénhidrát-anyagcsere szoros kapcsolatban áll többek között a fotoszintézissel, a transzspirációval és a légzéssel.

A monoszacharidok (glükóz, fruktóz) és a diszacharidok (szacharóz), valamint az itt említésre nem kerülő cukrok központi szerepet játszanak a növények szerkezetében és metabolikus folyamataiban. Roitsch (1999) szerint a növények az őket érő stresszhatásokra az oldható szénhidrátok felhalmozódásával válaszolnak, ami egy általános reakciónak tekinthető.

Murariu *et al.* (2008) különböző fogékonyságú körte-, alma- és birsfajtákban az *Ea* fertőzés hatására bekövetkező fiziológiai és biokémiai változásokat vizsgálták. Kimutatták, hogy a nagyon érzékeny 'Moşna' birsnél a bakteriális fertőzés hatására a komplex szerves anyagok szintézise lecsökkent, ugyanakkor ezen anyagok hidrolízise intenzívebbé vált, ezért a szénhidrátok oldható formái mintegy 121%-os növekedést mutattak.

Milcevicová (2009) mikroszaporított 'Idared' és Mrp (nemesítési klón) növényeken végeztek mesterséges fertőzéseket, az *Ea* 295/93 törzzsel. A tünetek meghatározása mellett a szénhidrát tartalom változásait, ezen belül ramnóz, arabinóz, galaktóz, glükóz, szacharóz, fruktóz és maltóz, valamint cukor alkoholok (szorbitol, inozitol, pinitol, manitol) szintjeit is vizsgálták. A fertőzést követő 3. napon, a kísérlet végén, a szénhidrátok szintje általában magasabb volt az érzékeny 'Idared' fajtánál, a rezisztens Mrp klónhoz viszonyítva, azonban a különbség csak a pinitolok esetében volt szignifikáns. Az eredményekből arra következtettek, hogy az alma *Erwinia* elleni védekezési mechanizmusban ezeknek lehet szerepük. A rezisztens Mrp növényekben semmiféle a bakteriális fertőzéshez kapcsolható változást nem tapasztaltak.

A fertőzés hatására kialakuló válaszreakciók mind a fogékony, mind a rezisztens növényben összefüggésbe hozhatók az endogén szénhidrátok mennyiségével. A különböző gazda-parazita kapcsolatban a cukrokra jellemző változások (Sárdi *et al.*; 1996, 1999; Végvári *et al.*, 2000) hasonlóak az abiotikus stresszhatásra bekövetkező változásokkal (Stefanovits-Bányai *et al.*, 1998, 2000; Honty *et al.*, 2008; Hudák *et al.*, 2010).

3. A KUTATÁSOK CÉLJA

Az általam vizsgálni kívánt *Enterobacteriaceae* családba, *Erwinia* nemzetségbe tartozó baktériumfajok (*Pcc*, *Dd* és *Ea*) eltérő növénybetegség típusokat okoznak. Előbbi kettő pektinbontó, ennek következtében lágyrothadás tünetet, míg a tűzelhalást okozó *Ea* hervadást, hajtásszáradást, levél- és virágkárosítást idéz elő (Waldee, 1945). Biokémiai tulajdonságaikban egymáshoz hasonlóak vagy egymástól különböznek pl. *Ea* szerológiai módszerrel vizsgálva homogén fajnak tekinthető, míg az *E. aroideae*, *E. chrysanthemi* baktériumfajokkal termeltetett antiszérum pozitív reakciót ad több *Ea* törzzsel (Lazar, 1972). A közöttük lévő jelentős különbség (kisebb mértékű azonosság) dacára a pathogenezis folyamatában számos azonosságot találunk. Pl. mindhárom faj képes hiperszenzitív szövetnekrózist (HR) okozni nem saját gazdanövényének szövetében, így dohányban. Továbbá a *hrp* génnek által kódolt „Harpin” fehérje, amely számos biokémiai folyamatot befolyásol, mindhárom faj esetében felelős az indukált gazdaválasz előidézésében (Hauben *et al.*, 2005).

PhD kutatásaim három fő területre - rezisztenciatesztelésekre, biokémiai vizsgálatokra és vizsgálati módszerek fejlesztésére - irányultak.

A burgonya esetében a **rezisztencia vizsgálatok** azért indokoltak, mert munkahelyem (Debreceni Egyetem ATK Nyíregyházi Kutatóintézete) több évtizede foglalkozik burgonyanemesítéssel. Nemesítési munkánk különböző kórokozókkal, kártevőkkel szemben rezisztenciát hordozó vad *Solanum* fajok használatán alapul. Irodalmi adatok alapján feltételezhetjük, hogy alapanyagaink, illetve klónjaink között, a *Pectobacterium* és a *Dickeya* fajokkal szembeni rezisztenciát/toleranciát hordozók is szerepelnek. Ezek kiválasztása, rezisztenciájuk mértékének meghatározása egyik kutatási feladatomat képezi.

Az almafajták fogékonyságának/rezisztenciájának fokozatait a növények hajtásának, ill. virágának segítségével szokták meghatározni. A hajtás és virágfertőzés mértéke között bizonyos fajták esetén van, más fajták esetén nincs összefüggés. Az almafajták mikroszaporított növényeinek tesztelése a BCE Gyümölcstermő Növények Tanszék által javasolt fajták köréből a következők miatt indokolt:

- egész évben rendelkezésre állnak;
- előállításuk kevésbé költséges, mint a kifejlett növényeké;
- a mesterséges fertőzések standard körülmények között végezhetők;
- a gazdanövény válaszreakcióját kevésbé befolyásolja egyéb stresszhatás (pl. vízhiány, tápanyaghiány, kondícióromlás).

A rezisztencia mértékének meghatározása nem képzelhető el a kórfolyamat részletes ismerete nélkül. Hazánkban mesterséges fertőzést szabadföldi körülmények között nem lehet végrehajtani, továbbá a spontán fertőződésből származó adatok sem megbízhatóak a növényállomány egyenlőtlen fertőződése miatt. A fenti okokból kifolyólag szükségesnek tartjuk inokulációs kísérletek végzését ismert virulenciájú baktériumtörzsekkel *in vitro* körülmények között.

Biokémiai vizsgálatokra azért van szükség, mert jogos az a feltételezés, hogy a különböző genetikai eredetű burgonya- és almafajtákban és utódaikban a fertőzés hatására bekövetkező biokémiai azonosságokat és különbségeket lehet kimutatni, hiszen erre a nemzetközi szakirodalomban szórványos adatok fellelhetők, amelyek azonban az összefüggésekre nem mutatnak rá. Az eddig közölt adatok között nem szerepelnek olyanok, amelyek az általam kitűzött célokat érintik, és mikroszaporított növényanyagra vonatkoznak. Tisztázni szeretnénk, hogy mely biokémiai változások kapcsolhatók az eltérő betegségformák kialakulásához.

A mikroszaporított növények bevonásának előnyei miatt a tesztelési módszer fejlesztésére, egy **új, gyors és megbízható módszer kidolgozására** azért van szükség, mert ezáltal jelentősen lecsökkenthető a vizsgálati idő, s a költségek is mérsékelhetők.

Munkám során az alábbi konkrét feladatok megoldását tűztem ki célul:

1. Burgonyafajták/klónok és almafajták fogékonyságának/ellenállóságának (biológiai stressztűrésük fokozatainak) megállapítása mikroszaporított növényeken.
2. Rezisztens, mérsékeltén fogékony és erősen fogékony fajták/klónok kiválasztása a biokémiai modellkísérletekhez.
3. A különböző baktériumos tünetformában (lágyrothadás, hajtáselhalás) végbemenő biokémiai folyamatok követése és összehasonlítása.
4. A fertőzést követő növényi válaszok (védekezési reakció) közötti azonosságok, vagy különbségek kimutatása biokémiai markerekkel.
5. Annak a kérdésnek a tisztázása, hogy a mikroszaporított növények alkalmasak-e a növények fogékonyságának/rezisztenciájának megállapítására.
6. Mikroszaporított növényeken alkalmazható gyors és megbízható tesztelési módszerek kidolgozása.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. Felhasznált anyagok

4.1.1. Baktériumfajok azonosítása, biokémiai tulajdonságaik és virulenciájuk vizsgálata

A hazánkban Dr. Hevesi Mária által izolált és génbankban fenntartott fajokat/törzseket alkalmaztunk és az alábbi táblázatban (1. táblázat) bemutatott eltérő reakciók alapján elvégeztük a különböző fajok és alfajok előzetes ellenőrzését.

1. táblázat. Főbb diagnosztizáló tesztek az *Erwinia*, *Dickeya* és *Pectobacterium* fajok és alfajok elkülönítéséhez.

Kórokozó <i>Tesztek</i>	<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>atroseptica</i>	<i>Dickeya dadantii</i>	<i>Erwinia amylovora</i>
Erythromicin érzékenység	-	-	+	-
Redukáló anyagok képződése szacharózból	-	+	+	+
Gáz képződése glükózból	-	-	+	+
Pektát degradáció	+	+	+	-
Indol képzés	-	-	+	-
Gumók lágyrothadása	+	+	+	-
Savképzés: laktózból	+	+	-	-
α -methyl-glükózidból	-	+	-	-
palatinózból	-	+	-	-

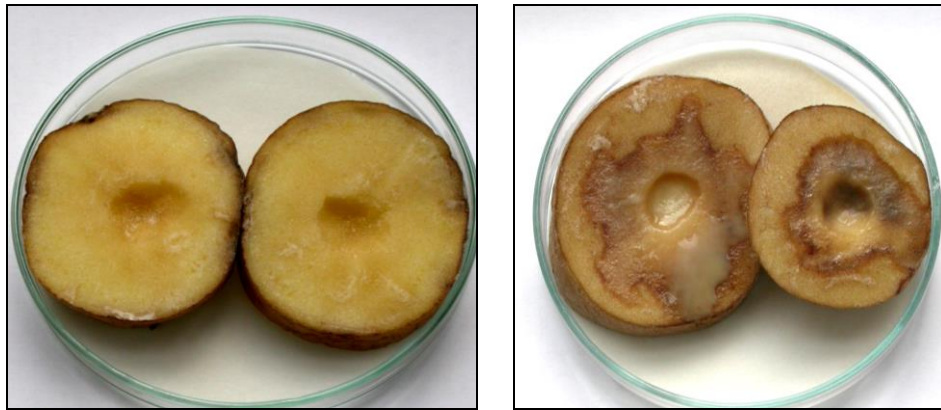
További biokémiai vizsgálatokat végeztünk a baktériumfajok azonosságának tisztázására (API 20E) és szénhidrát hasznosításának megállapítására (API 50CH) (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) kitek felhasználásával. Ezekbe a vizsgálatokba bevontunk az *Dd* egy virulens (1839) és egy avirulens (1679) törzsét is. Az összes izolátum esetében a kitek mintahelyeinek megtöltéséhez, a kitekhez tartozó speciális táptalajokhoz 10^8 sejt/ml töménységű baktérium szuszpenziót használtunk. Mindkét gyorsesztest $36\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on inkubáltuk és 24-48 óra elteltével értékeltük.

A további kísérletekben (növények fertőzése) a *Pcc*, *Dd* és *Ea* baktérium virulens törzseit használtuk fel.

A burgonyát károsító baktérium törzsek virulenciáját pektinbontó képességüket kihasználva az alábbi **gumóteszt**tel határoztuk meg:

Az alaposan megmosott burgonyagumókból szeleteket vágunk, dugófúróval mindegyik közepébe kis mélyedést vágunk, majd a korongokat steril, nedves szűrőpapírt tartalmazó Petri csészékbe helyeztük. A gumókorongokon vágjt mélyedésbe töltöttük a baktérium szuszpenziót

(10^8 sejt/ml) kb. 100 μ l/mélyedés mennyiségben úgy, hogy a lyuk megteljen, de a szuszpenzió ne csorogjon ki. A kontroll mintáknál a mélyedésekbe steril desztillált vizet töltöttünk. A szűrőpapírokat 3 ml steril desztillált vízzel nedvesítettük meg, majd a Petri csészéket lezártuk és 24 óráig 26 °C-on inkubáltuk a korongokat. A virulencia értékelése az alapján történt, hogy az inokuláció helyétől számítva milyen mértékben (átmérő) dezorganizálódott a gumószövet a 24 órás inkubációt követően (7. ábra).



7. ábra. Gumóteszt eredménye virulens *Dickeya dadantii* 1839 (jobbra) és a desztillált vizes kontroll (balra) eredménye

A lágyrothadást nem okozó *Ea* virulenciáját pedig hiperszenzitív reakció segítségével teszteltük. A baktérium szuszpenziót (10^8 sejt/ml) a ‘White Burley’ dohánylevél szövetébe juttattuk injekciós tűvel. Majd 24 óra elteltével figyeltük a hiperszenzitív reakció kialakulását, azaz a gyors szöveti nekrozist (Klement, 1963) (8. ábra).



8. ábra. *Erwinia amylovora* virulenciájának ellenőrzése dohánynövényen hiperszenzitív reakció kialakulásával (Fotó: Honty Krisztina)

4.1.2. Burgonya- és almafajtákból előállított *in vitro* növények

A mikroszaporított kísérleti növényanyagokat a Debreceni Egyetem ATK Nyíregyházi Kutatóintézetének Biotechnológiai Laboratóriumában állítottuk elő. A burgonyafajtákat és nemesítési klónokat a Biotechnológiai Laboratórium *in vitro* génbanki gyűjteményéből szaporítottuk fel.

Az almafajták esetében néhány fajta a Biotechnológiai Laboratórium génbanki anyagából származik, de néhány fajta esetében az *in vitro* felszaporítást megelőzte az *in vitro* kultúrába vitel. 2012 februárjában a Budapesti Corvinus Egyetem Gyümölcsstermő Növények Tanszékének kísérleti telepéről behozott vesszők meghajtásával megkezdtük hét almafajta ('Red Fuji', 'Freedom', 'Húsvéti rozmaring', 'Jonagold', 'Hesztia', 'Idared' és 'Tenroy' (Royal Gala)) *in vitro* kultúrájának létrehozását. A kísérletben államilag elismert multirezisztens fajta, történelmi almafajta és jelenleg is termesztésben lévő fajta egyaránt szerepelt.

4.2. A fertőzések és tünetértékelések vizsgálati módszerei

A burgonyát károsító *Erwinia* fajokkal végzett *in vitro* fertőzéseket a DE ATK Nyíregyházi Kutatóintézet Biotechnológiai Laboratóriumában dolgoztuk ki. *In vivo* burgonyafertőzések Vlasov és Pereverzev módszerével (1989) történtek.

Az *Ea*-val végzett *in vitro* hajtásfertőzések esetében Hevesi *et al.* (2000) által kidolgozott módszert alkalmaztuk.

A kiválasztott izolátumokkal 2003 és 2008 között végeztünk fertőzéseket *in vitro* burgonyahajtásokon, *in vitro* gumókon (mikrogumó) és üvegházi gumókon (primer gumó). Alma esetében *in vitro* hajtásfertőzések 2012 és 2013-ban történtek.

4.2.1. Burgonyafajta hajtásfertőzése *in vitro* körülmények között

A kísérletekbe összesen 13 burgonya genotípust vontunk be: 77365/103, 98/91, 136/92, 36/92, 34/85, 736/82, 1469/83, 77399/514, 'Desiree', 'Réka', 'Cleopátra', 'Rachel' és 'Boró'.

A fertőzési módszer leírása:

- *In vitro* burgonyanövények nevelése egyedenként (kémcsőben) 3 hétig hormonmentes MS táptalajon, napi 16 órás, $105 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ megvilágításon, 22 °C hőmérsékleten nevelőhelyiségben történt.
- A kísérletekben három hetes *in vitro* burgonyanövényeket fertőztünk. A fertőzésekhez az *Pcc* és *Dd* 10^8 sejt/ml töménységű szuszpenzióját használtuk. A fertőzések steril

körülmények között, egy derékszögben meghajlított csipesz hegyével történtek úgy, hogy a növény szárának közepét szúrtuk meg, melyet előzőleg a baktériumszuszpenzióba mártottunk. A fertőzés közben a kémcsövet lefelé fordítottuk, hogy a baktérium szuszpenzióból ne kerülhessen a táptalajra. A kontroll kezelés esetében a növényeket steril desztillált vízbe mártott csipesszel szúrtuk meg (9. ábra).

- A megfertőzött növényeket tartalmazó lezárt kémcsöveket visszahelyeztük nevelőhelyiségbe.
- A fertőzést követő hetedik napon megfigyeltük a szár- és levéltüneteket (mm-ben mért üveges, átlátszó szár, a levél hervadt); a levéltünetek alapján betegségfokot számítottunk, melynek értéke alapján meghatároztuk, hogy az adott burgonyafajta milyen érzékenységi osztályba sorolható: erősen fogékony, mérsékelten fogékony, vagy nem fogékony a fertőző baktériummal szemben.



9. ábra. *In vitro* hajtásfertőzés módszere burgonyánál

Az *in vitro* burgonyanövények fertőzését mind a *Pcc*, mind a *Dd* esetén három független kísérletben végeztük, alkalmanként 20-25 db fertőzött és 5 db kontroll növényvel dolgoztunk genotípusonként.

Baktérium sejtszám meghatározása:

A baktérium – fertőzött növényi szövetekben való – szaporodásának mértékéről a baktériumsejtek visszaizolálásával győződünk meg. Összesen három helyről vettünk mintát, ahonnan 1 cm-es szárdarabokat metszettünk ki:

- az inokulációs ponttól számítva felfelé és lefelé is 0,5 cm-t (szúrás környéke (SZ))
- a szúrás környéki rész feletti 1 cm-s szárrész (szúrás felett (F))
- a szúrás környéki rész alatti 1 cm-s szárrész (szúrás alatt (A))

Egy mintákhoz genotípusonként 3 db 1 cm hosszú hajtásdarabokat használtuk fel. A fertőzött szárrészt steril dörzsmozsárban hajtásdarabonként 100 µl steril desztillált vízzel homogenizáltuk,

majd ebből tízes lépték szerint hígítási sort készítettünk. A hígítási sorból három hígítást szélesztettünk ki. *Pcc* esetében 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , míg *Dd* esetében 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} . Ezek voltak azok a hígítások, ahol szabad szemmel jól számolhatóak voltak a telepek. A hígításokból Nutrient agarra cseppentettünk 100 µl-t, majd üvegbottal szélesztettük. A mintákat 48 h-ig 26 °C-on inkubáltuk, majd a kifejlődött kolóniákat megszámoltuk.

In vitro burgonyanövények fogékonyságának értékelése:

A növényeken a tüneteket egy, három és hét nap után értékeltük. Az alábbi skála alapján minden növény kapott egy értékszámot, majd a kapott értékekből fertőzési indexet (F_i) számoltunk.

Tünetek értékelésének skálája:

- 1: tünetmentes
- 2: a levelek 1-25%-a hervadt
- 3: a levelek 26-50%-a hervadt
- 4: a levelek 51-75%-a hervadt
- 5: a levelek 76-100%-a hervadt

Fertőzési index (F_i) számítása az alábbi képlettel történt:

$$F_i = \frac{\sum [(N_1 \times 1) + (N_2 \times 2) + (N_3 \times 3) + (N_4 \times 4) + (N_5 \times 5)]}{\sum N}$$

N_{1-5} : adott skálafokhoz tartozó beteg növények száma

$\sum N$: összes megfigyelt növény

A fertőzési index alapján a vizsgált klónokat különböző **fogékonysági csoportokba** soroltuk:

Pectobacterium carotovorum subsp. *carotovorum* esetén

- $1 \leq F_i \leq 2$: rezisztens
- $2 < F_i \leq 3$: mérsékelten rezisztens
- $3 < F_i \leq 3,5$: mérsékelten fogékony
- $3,5 < F_i \leq 4,5$: fogékony
- $4,5 < F_i$: erősen fogékony

Dickeya dadantii esetén

- $1 \leq F_i \leq 1,3$: rezisztens
- $1,3 < F_i \leq 1,6$: mérsékelten rezisztens
- $1,6 < F_i \leq 2$: mérsékelten fogékony
- $2 < F_i$: erősen fogékony

4.2.2. Burgonya mikrogumó fertőzése *in vitro* körülmények között

A burgonya mikrogumókat (10. ábra) a fertőzési kísérleteket megelőző évben (2003) kezdtük előállítani. Leszedésüket követően egy hétig szobahőmérsékleten parásodtak. 6-10 mm-es frakciójú gumókon végeztük a fertőzési kísérleteket. Az inokulációhoz továbbra is a *Pcc* és *Dd* 24 órás tenyészetéből készült 10^8 sejt/ml töménységű szuszpenzióját használtuk. A kísérletbe bevont genotípusok: 77365/103, 98/91, 136/92, 36/92, 34/85, 736/82, 1469/83, 77399/514, 'Desiree', 'Réka', 'Gülbaba', 'Rachel' és 'Boró'. A gumókat baktériumszuszenzióba mártott steril injekcióstűvel megszúrtuk, majd steril műanyag Petri csészébe, steril szűrőpapírra helyeztük, amelyet steril desztillált vízzel (2 ml/petricsésze) megnedvesítettünk. A kontroll kezelés során steril desztillált vizet használtunk inokulumként. A lezárt Petri csészéket 26°C-ra termosztátba helyeztük. Kísérletenként 25 db mikrogumót fertőztünk genotípusonként, ebből 5 db képviselte a kontroll csoportot.



10. ábra. *In vitro* 'Desiree' burgonyagumók (Fotó: Borbély Ferenc)

In vitro gumók fogékonyságának értékelése:

Az értékelés a fertőzést követő első, harmadik és hetedik napon történt. A gumókat a szűrés mentén felvágtuk és a gumószövet felbomlásának arányában értékeltük a tüneteket.

A következő skálát használtuk:

- 1- nincs tünet
- 2- gumó 25 %-a elrothadt
- 3- gumó 50 %-a elrothadt
- 4- gumó 75 %-a elrothadt
- 5- a teljes gumó elrothadt.

A tünetek alapján fertőzési indexet számítottunk, az így nyert értékek szerint a vizsgált klónokat különböző **fogékonysági csoportokba** soroltuk:

Pectobacterium carotovorum subsp. *carotovorum* esetén

- $1 \leq F_i \leq 3$: rezisztens
 $3 < F_i \leq 4,2$: mérsékelten fogékony
 $4,2 < F_i$: erősen fogékony

Dickeya dadantii esetén

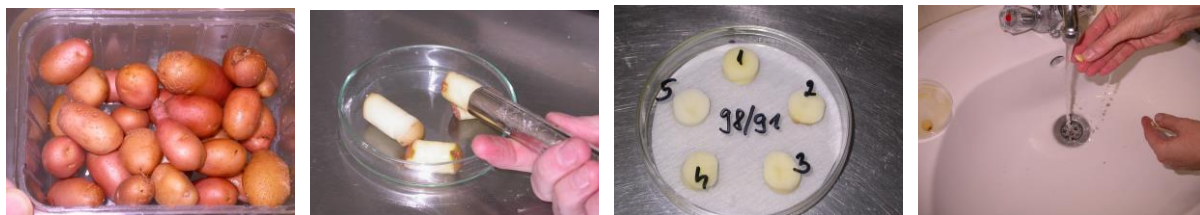
- $1 \leq F_i \leq 2$: rezisztens
 $2 < F_i \leq 3,5$: mérsékelten rezisztens
 $3,5 < F_i \leq 4,2$: mérsékelten fogékony
 $4,2 < F_i$: erősen fogékony

4.2.3. Primer burgonyagumó fertőzése üvegházi körülmények között

Pcc és *Dd* virulens törzseinek 10^8 sejt/ml szuszpenzióját használtuk a kísérletek során, melyekben továbbra is 13 burgonya genotípust: 77365/103, 98/91, 136/92, 36/92, 34/85, 736/82, 1469/83, 77399/514, 'Desiree', 'Réka', 'Gülbaba', 'Rachel' és 'Boró' vizsgáltunk meg. A kísérletekhez felhasznált kórokozómentes primer gumókat üvegházban állítottuk elő, izolátor alatt.

Az inokuláció során Vlasov és Pereverzev módszerét (1989) alkalmaztuk (11. ábra):

- Mintánként 3-5 egészséges gumót folyóvíz alatt megtisztítottunk, megszáritottunk és 96%-os etil-alkohollal áttöröltük.
- Dugóhúzó segítségével 10 mm átmérőjű hengereket vájtunk ki, majd feldaraboltuk 1 cm hosszúságú darabokra, minimum 20-25 db-t (+ 5 kontroll) mintánként.
- Az inokuláció előtt minden korongot lemértünk, majd steril Petri csészébe helyeztük megnedvesített szűrőpapírra (5db korong/ Petri csésze).
- A korongokra Pasztőr pipetta segítségével 100µl baktérium szuszpenziót csepegtettünk. A kontroll kezelésben steril desztillált vizet használtunk.
- A fertőzést követően a Petri csészéket inkubátorba raktuk 26 °C-ra 24-26 órára.
- Másnap az elrothadt növényi részt lemostuk és az egészséges növényi szövet tömegét visszamértük.



11. ábra. Primer burgonyagumók fertőzési módszere

Primer burgonyagumók fogékonyságának értékelése:

A fogékonyság mértékét egy öt fokozatú skála segítségével határoztuk meg, melynek alapja az a tömegkülönbség, mely a burgonyakorongok tömegének az inokuláció előtti és utáni mérésekből adódtak. Eredményeinket az egészséges szövet tömegének arányában %-ban fejeztük ki.

A következő skálát használtuk mindkét baktériumfaj esetében:

- | | |
|------------------|------------------------|
| 1- 0- 5,0 % | erősen fogékony |
| 2- 5,1-10,0 % | fogékony |
| 3- 10,1-20,0 % | mérsékelten fogékony |
| 4- 20,1-30,0 % | mérsékelten rezisztens |
| 5- 30,1 % felett | rezisztens |

4.2.4. Mikroszaporított almafajták hajtásfertőzése

Vizsgálatainkat hét almafajta: 'Red Fuji', 'Freedom', 'Húsvéti rozmaring', 'Jonagold', 'Hesztia', 'Idared' és 'Tenroy' (Royal Gala) négy hetes *in vitro* növényein végeztük. Kísérletenként 50-60 db fertőzött növényvel és 8-10 db kontroll növényvel dolgoztunk. Az *in vitro* növényeket a Debreceni Egyetem ATK Nyíregyházi Kutatóintézetének Biotechnológiai Laboratóriumában állítottuk elő. A fertőzések *Ea* 24 órás tenyészetének szuszpenziójába (10^8 sejt/ml) mártott ollóval, felülről számított második kifejlett levelek bevágásával történtek (12. ábra).



12. ábra. Hajtásfertőzés módja *in vitro* almanövényeknél

Baktérium sejtszám meghatározása:

A baktérium szaporodásának mértékét a fertőzött növényi szövetben a baktériumsejtek visszaizolálásával végeztük alma esetében is. 1 cm-es szárdarabot metszettünk ki az inokulációs ponttól, vagyis a félbevágott levél nyelének szárhoz illeszkedésétől számítva felfelé és lefelé is 0,5 cm-t. Egy mintákhoz fajtánként három darab, 1 cm hosszú hajtásdarabot használtuk fel. A hajtásdarabokat mintánként 100 µl steril desztillált vízzel homogenáltuk steril dörzsmozsárban, majd ebből tízes lépték szerint hígítási sort készítettünk. A hígításokból Nutrient agarra cseppentettük 100 µl-t, majd üvegbottal szélesztettük. A mintákat 48 h-ig 26 °C-on inkubáltuk, majd a kifejlődött kolóniákat megszámloltuk.

In vitro almanövények fogékonyságának értékelése:

A tüneteket a fertőzést követő második, ötödik és nyolcadik napon értékeltük. A betegség mértékét a bevágott levél, a tovább fertőződött levelek, levélerek és a hajtás elbarnulásának mértéke alapján értékeltük egy öt fokozatú skála segítségével Gill (2000) módszere szerint (13. ábra).

- 0 - nincs tünet, esetleg a vágás felszínén látható csekély elbarnulás
- 1 - a barnulás a megvágott levél főerére is áttérjed
- 2 - elbarnul a levélnyel is, illetve a főér mentén a levél többi részére is kiterjed a barnulás
- 3 - a vágott levéllel szomszédos levelek főere és levélnyele is elbarnul, valamint a levelek lekonyulnak
- 4 - a szomszédos levelekben tovább terjed a barnulás, a megvágott levél alatt a szár is elbarnul
- 5 - a teljes hajtás elbarnul, baktérium nyálkacseppek jelennek meg a száron



13. ábra. A betegség tüneteinek erőssége a hajtásokon (fertőzési index)

Fertőzési index (F_i) számítása az alábbi képlettel történt:

$$F_i = \frac{\Sigma [(N_1 \times 1) + (N_2 \times 2) + (N_3 \times 3) + (N_4 \times 4) + (N_5 \times 5)]}{\Sigma N}$$

N_{1-5} : adott skálafokhoz tartozó beteg növények száma

ΣN : összes megfigyelt növény

Fajtánként átlagoltuk a mérési adatokat. Az ötödik napon megfigyelt tüneteket figyelembe véve a számított F_i érték alapján a fajták jellemzéséhez négy fogékonysági csoportot különítettünk el:

- $0 \leq F_i \leq 2,0$: rezisztens
- $2,0 < F_i \leq 2,4$: mérsékelten rezisztens
- $2,4 < F_i \leq 3$: mérsékelten fogékony
- $3 < F_i$: erősen fogékony

4.3. Biokémiai vizsgálatok anyaga és módszerei

4.3.1. Kísérletbe bevont növényfajok/fajták és mintavételek

Az *in vitro* növényfertőzési kísérletek eredményei alapján választottuk ki a biokémiai vizsgálatokhoz a következő genotípusokat:

Pectobacterium carotovorum subsp. *carotovorum* esetén:

- rezisztens: 77365/103 klón
- mérsékelten fogékony: 36/92 klón
- erősen fogékony: 98/91 klón

Dickeya dadantii esetén:

- rezisztens: 34/85 klón
- mérsékelten fogékony: 'Réka'
- erősen fogékony: 'Boró'

Erwinia amylovora esetén:

- rezisztens: 'Freedom'
- mérsékelten fogékony: 'Húsvéti rozsmaring'
- erősen fogékony: 'Tenroy' (Royal Gala)

A biokémiai vizsgálatok során a mintavételi helyek kijelölése a visszaizoláláskor vett mintákhoz hasonlóan történt.

A burgonyanövényeknél három helyről vettünk mintát:

- a szűrés környéki részből, ez az inokulációs pont alatt és feletti 1-1 cm-es szárdarabot takarta (SZ),
- szűrés környéki rész feletti (szűrés feletti) 2 cm-s szárrészt (F) és
- a szűrés környéki rész alatti (szűrés alatti) szárrészt is, szintén 2 cm hosszúságút (A).

Alma esetében egy helyről vettünk mintát. Összesen 2 cm-es szárdarabot metszettünk ki az inokulációs ponttól - félbevágott levél nyelének szárhoz illeszkedése - számítva lefelé haladva.

4.3.2. Vizsgálati módszerek

4.3.2.1. A peroxidáz enzimaktivitás spektrofotometriás meghatározása

A peroxidáz (POD) enzimaktivitás meghatározása a Budapesti Corvinus Egyetem Élelmiszertudományi Kar Alkalmazott Kémia Tanszékén, Stefanovitsné Dr. Bányai Éva irányításával történt.

Az enzimaktivitások méréséhez kb. 200 mg mintát mértünk be hűtött dörzsmozsárba és 800 µl hűtött 0,1 M Tris-HCl puffer (pH=7,8) és kvarchomok hozzáadásával eldörzsöltük. A

mintákat 13000 rpm fordulatszámon 18 percig 4 °C-on centrifugáltuk, majd a felülúszóból határoztuk meg a peroxidáz aktivitást.

Az így nyert növényi kivonatból Shannon *et al.* (1966) spektrofotometriás módszere alapján mértük a POD aktivitást, H₂O₂ mint szubsztrát és ortodianizidin, mint kromogén reagens ($\epsilon=11,3$) jelenlétében. Az abszorbancia növekedését 460 nm-n mértük (Varian DMS 100 S UV-Visible Spektrophotometer). Az enzimaktivitást U/mg egységben adtuk meg friss súlyra vonatkoztatva.

4.3.2.2. Szénhidráttartalom meghatározás

Mintánként 300 mg *in vitro* burgonyanövény szárát, valamint 100 mg *in vitro* almahajtás szárát dörzsmozsárban folyékony nitrogénnel homogenáltuk. A vizsgálat időpontjáig a mintákat -80 °C-on, ultramélyhűtőben tároltuk. A vizsgálat során a mintákhoz 1 ml desztillált vizet adtunk oldószerként, majd rázógépből egy éjszakán át ráztuk azokat. Az így előkészített mintákat 5 percen keresztül 15000 fordulat/perces fordulatszámon centrifugáltuk (Hettich 23R). Ezt követően a felülúszót pipettával leszívtuk, majd 0,45 µm átmérőjű MILLEX®-HN Syringe Driven Filter Unit (SLHN 013 NL, Millipore Ltd. 290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA) szűrőn átszűrtük.

HPLC berendezés: a mérések során a Waters HPLC berendezés (Waters Corporation 34 Maple Street Milford, MA 01757 USA) a következő hardverekből állítottuk össze: 2414 Refractive Index Detector, 1525 Binary HPLC Pumpa, Colonna termosztát, 717plus automata injektor. A berendezés felügyeletét és irányítását EMPOWER™ 2 software program végezte.

A cukrok szétválasztása Sugar-Pak™ oszlopon történt, melyet 90 °C-on oszloptermosztátban tartottuk. A mozgó fázis 0.0001 M Ca-EDTA [304695-78-1] tartalmú víz volt. Az áramlási sebesség 0.5 ml/perc, ilyen áramlás mellett 450 ± 10 psi nyomás alakult ki az oszlopon. A detektálás 30 percig történt. Az injektálási mennyiség 20 µl volt. A retenciós idő: szacharóz 8,3 perc, glükóz 10,8 perc, fruktóz 11,77 perc, szorbitol 15,4 perc.

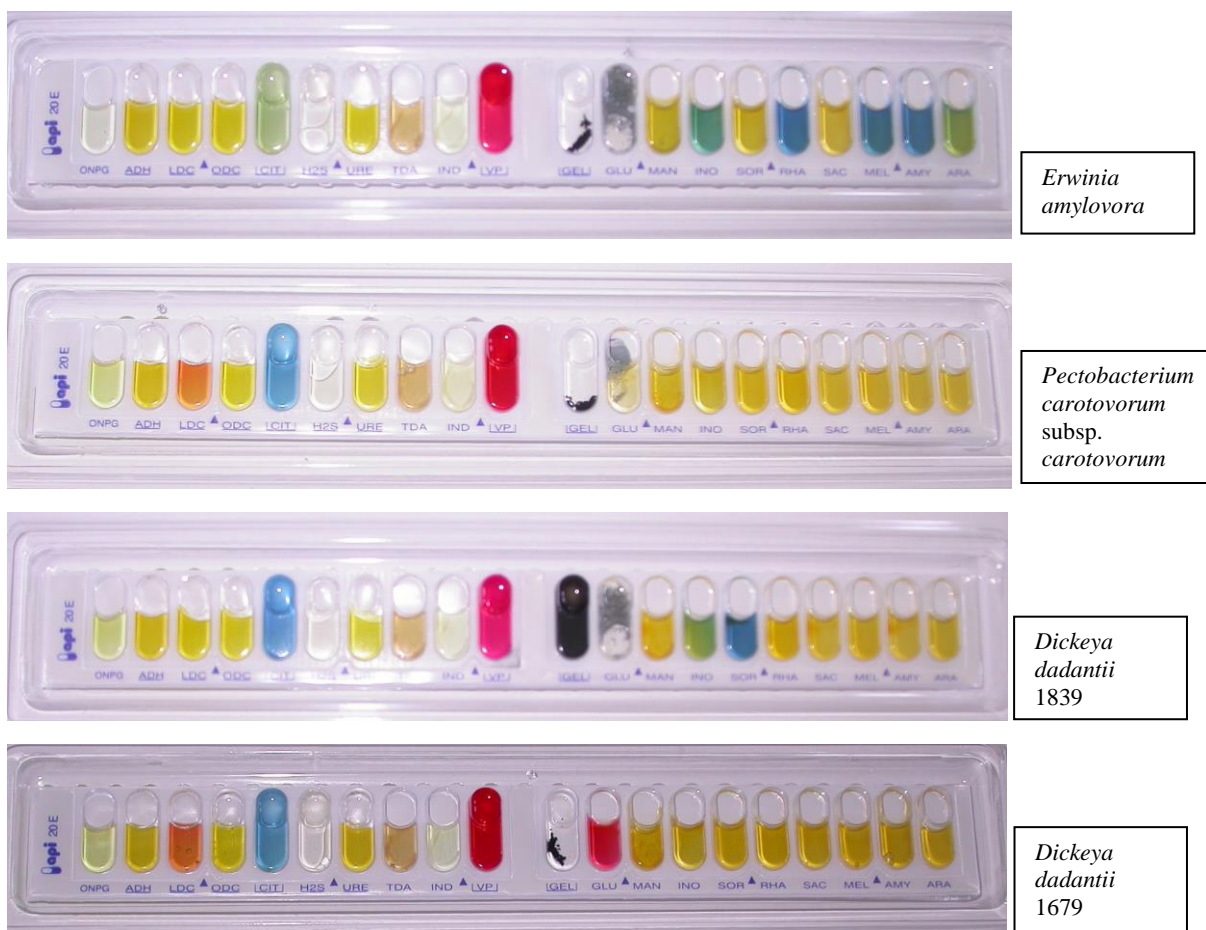
A méréseket a BCE Gyümölcsstermő Növények Tanszék HPLC laboratóriumában lévő berendezéssel végeztük Dr. Végvári György irányításával.

A vizsgálataink során kapott valamennyi adat statisztikai kiértékelését egytényezős varianciaanalízissel végeztük SPSS 13.0 for Windows programcsomag segítségével. A homogén csoportok képzése Tukey-tesztel történt.

5. EREDMÉNYEK

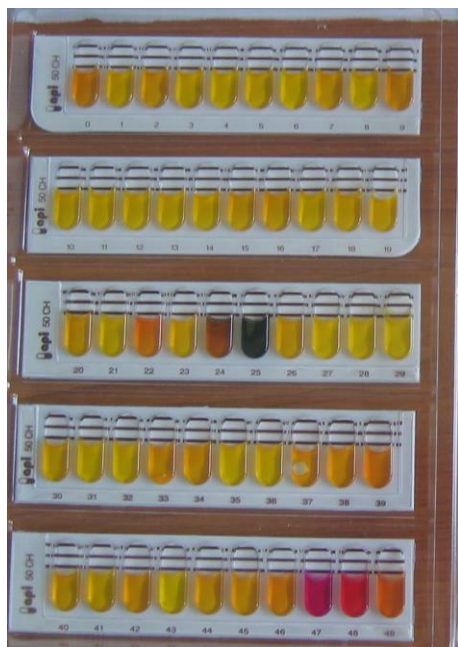
5.1. Az API 20E és API 50CH tesztek eredményei

Mindkét kit módszere színváltozás megfigyelésén alapszik. Az API20E kit értékelése során az eredményeket a gyártó által rendelkezésünkre bocsátott pozitív és negatív minta-tesztsíkok alapján értékeltük (14. ábra). *Ea* esetén pozitív reakciót kaptunk a β -galaktozidáz, citrát hasznosítás, acetoin termelés, valamint a glükóz, mannit, szorbit, szacharóz, arabinóz vizsgálatokban. *Pcc* esetén pozitív volt a lizin-dekarboxiláz és az acetoin termelésére irányuló vizsgálatok. A virulens *Dd* az acetoin termelésre, a gelatinázra, az inozitra és a szorbitra adott pozitív reakciót, míg az avirulens *Dd* estében pozitív lett a lizin-karboxiláz és az acetoin termelés.

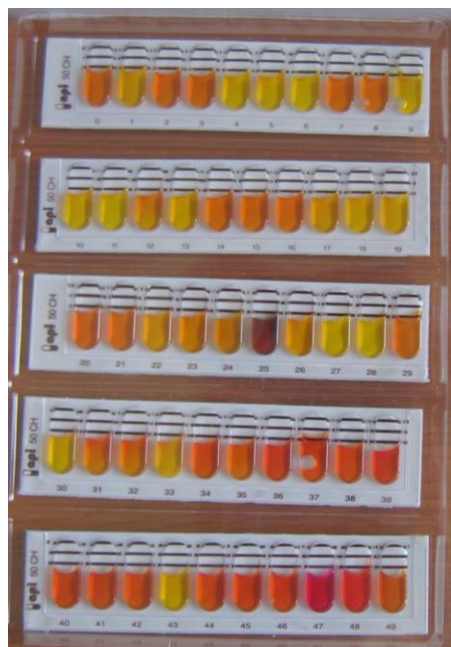


14. ábra. A kísérletbe vont baktériumfajok/törzsek biokémiai tulajdonságai API 20E tesztsíkok alkalmazásával

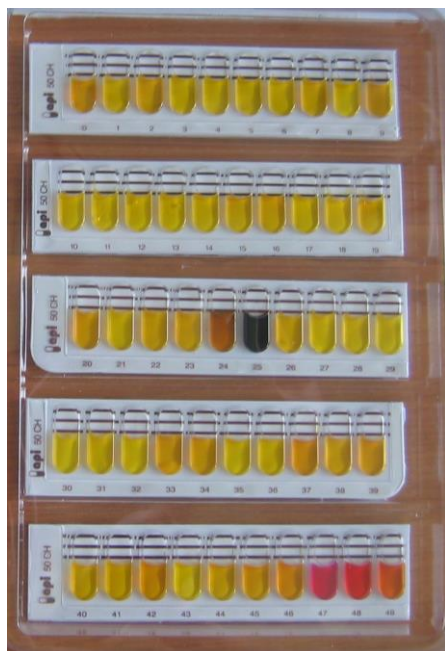
Az API 50CH kit értékelése során, ha az adott baktérium hasznosítja az adott szénhidrátot, akkor az eredeti piros színű oldat sárgára változik, míg a zselatinbontás esetében pozitív teszt során elfolyósítja a zselatint és fekete színreakció lép fel (15. ábra). A 49 különböző szénhidrátból kiemelném a számunkra legfontosabbakat, a glükózt, fruktózt, szacharózt és szorbitolt, melyet valamennyi vizsgált baktérium hasznosít.



Pectobacterium carotovorum subsp.
carotovorum



Erwinia amylovora



Dickeya dadantii 1679



Dickeya dadantii 1839

15. ábra. A kísérletbe vont baktériumfajok/törzsek cukorhasznosítása API 50CH tesztcsíkok alkalmazásával

5.2. Burgonyafajták fogékonysága a baktériumfajokkal szemben

5.2.1. *In vitro* burgonyafajták fogékonysága a hajtásfertőzés alapján

Az *in vitro* növények betegségfokozatait (rezisztens, mérsékelt rezisztens, mérsékelt fogékony, erősen fogékony) a fertőzést követő hetedik napra kifejlődött tüneteket alapján mutatom be mind a *Pcc*, mind az *Dd* esetében. A két baktériumfaj a hajtásokon hasonló betegségi tüneteket okozott. Az alábbiakban a fontosabb betegségkategóriákra jellemző, vizuálisan észlelhető tünetformák láthatók.

A desztillált vízzel történt kontroll kezelések esetében valamennyi növény a tünetmentes kategóriába tartozott. A növények egészségesek, sem levél, sem szártünet nem mutatkozik rajtuk. A szúrás helye észrevehető, de beszáradt (16. ábrán bekarikázva).



16. ábra. Kontroll kezelésű, tünetmentes ‘Cleopátra’ ($F_i=1,0$)

A rezisztens klónok esetében nagymértékű levélkárosodás nem volt jellemző, legfeljebb a szúrás alatti vagy feletti levél volt hervadt. Szártüneteket nem lehet megfigyelni, viszont a szúrás helye látszik (17. ábra).



17. ábra. A 77365/103, mint rezisztens klón *in vitro* hajtásain jelentkező tünetek ($F_i=1,63$)

A mérsékelten rezisztens fajta esetén a szúrás helye látszik, több levél elhervadt, de szártüneteket nem lehetett megfigyelni (18. ábra).



18. ábra. A 'Réka' ($F_i=2,37$), mint mérsékelten rezisztens fajta *in vitro* növényein jelentkező tünetek

A mérsékelt fogékonysággal jellemezhető fajtnál gyakori volt, hogy a szúrás helyéről kiindulva a szár rothadásnak indult és kettéhasadt, de ez csak néhány mm-re terjedt ki (19. ábra bal oldali képen nyíllal jelezve). Emellett a levelek hervadása volt megfigyelhető. A szúrás helye jól látható, és szártünetek is jelentkeztek (19. ábra jobb oldali képen nyíl jelzi).



19. ábra. A 'Desiree' ($F_i=3,04$), mint mérsékelten fogékony fajta *in vitro* növényein jelentkező tünetek

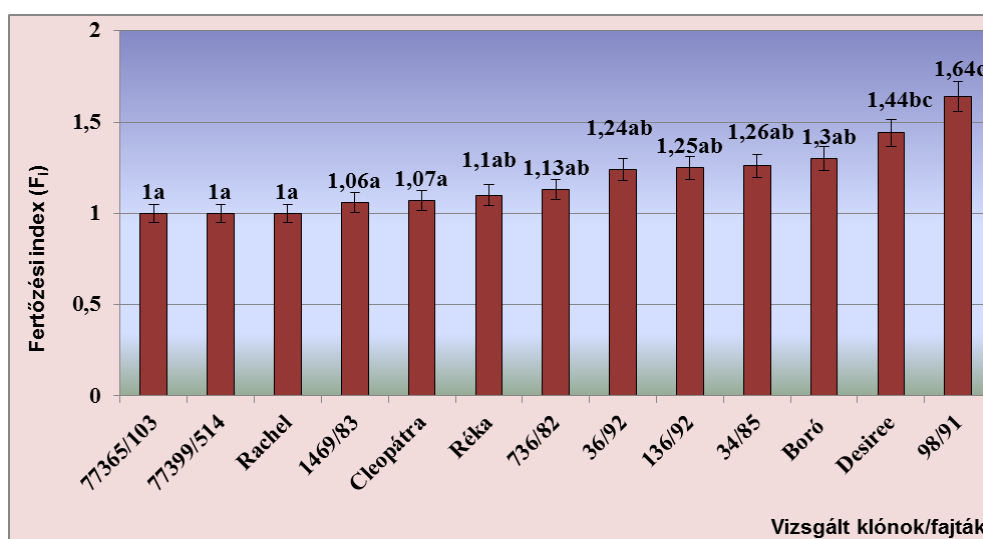
Az erősen fogékony kategóriába tartozó klónok jellegzetes szár- és levéltüneteket mutattak. A levelek hervadása már a fertőzést követő első napon megfigyelhető volt a növények egyharmadánál. A fertőzést követő hetedik napon a növény leveleinek 90%-a elrothadt és súlyos szártünetek is mutatkoztak. A szár 90%-a vagy egésze elrothadt. Előfordult, hogy a szúrás helyétől kezdődően a szár hosszában kettéhasadt (20. ábra képen nyíl jelzi).



20. ábra. A 98/91 klón ($F_i = 3,04$), mint erősen fogékony klón *in vitro* növényein mutatkozó tünetek

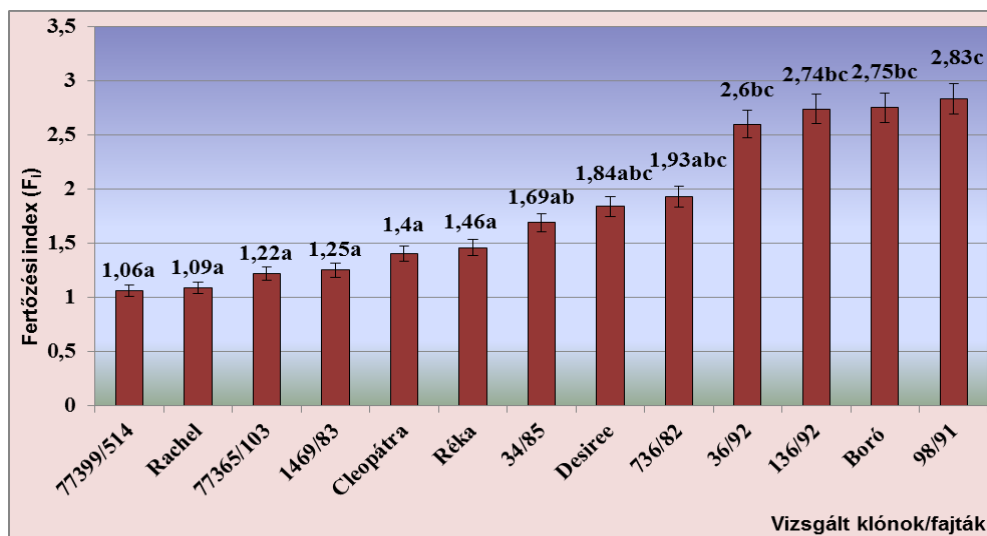
5.2.1.1. A *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* fertőzés hatása

Az itt bemutatott eredmények a három vizsgálati év (2003-2005) átlagát reprezentálják. Eredményeinket figyelembe véve elmondhatjuk, hogy már a fertőzést követő első nap elteltével különbségeket tudtunk megállapítani a fajták között (21. ábra és 2. melléklet 2-3. táblázat). A kísérletek kiértékelése után legfogékonyabbnak ítélt 98/91 klón már a fertőzést követő első napon is a legfogékonyabbnak bizonyult, és a fajták között elfoglalt helye a későbbiekben sem változott. Ebben a megfigyelési időpontban négy csoportot különítettünk el. A megfigyelt genotípusok közül három (77365/103, 77399/514, 'Rachel') tünetmentesnek ($F_i = 1,0$) bizonyult. Szártüneteket még nem tapasztaltunk a megfigyelés ezen korai stádiumában. A fajták közötti különbségek a leveleken jelentkező hervadási tünetekből adódtak. A fertőzési index értéke 1-től 1,64-ig terjedt.



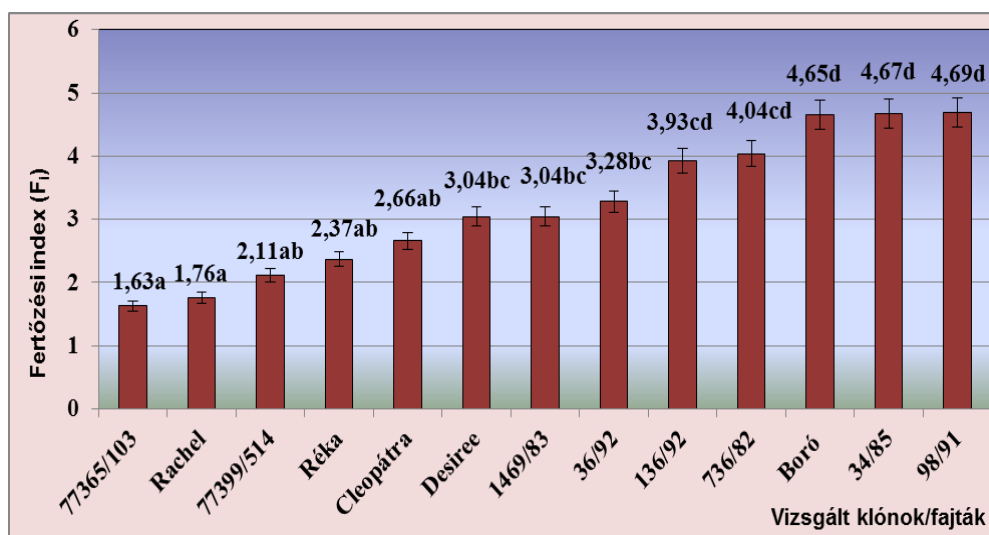
21. ábra. *In vitro* burgonyanövények hajtásainak átlagos fogékonysági értéke az *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* fertőzést követő első napon. A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik

Az inokulálást követő harmadik napon az átlagos értékek alapján a fajták jobb elkülönülését tapasztaltuk. Ekkor öt csoportot tudtunk elkülöníteni (22. ábra). Természetesen az átlagos fertőzési indexek értéke is magasabb lett, 1,06 és 2,83 között változott. A legkisebb fertőzöttség a 77399/514 klónhoz tartozó növényeken volt megfigyelhető, de a ‘Rachel’, 77365/103, 1469/83, ‘Cleopátra’, ‘Réka’, 34/85, ‘Desiree’ és a 736/82 genotípusokon tapasztalt tünetek súlyossága sem tért el szignifikánsan ettől. A legmagasabb értéket ekkor is a 98/91 klón esetében tapasztaltuk.



22. ábra. *In vitro* burgonyanövények hajtásainak átlagos fogékonysági értéke az *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* fertőzést követő harmadik napon. A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik

A fertőzést követő hetedik nap volt az utolsó megfigyelési időpontunk. A fertőzési index 1,63 és 4,69 között mozgott. Továbbra is öt csoportot különítettünk el egymástól, hasonlóan a második megfigyelési időpontban (22. ábra) tapasztaltakhoz. Viszont a fajták csoportokon belüli elhelyezkedése módosult. Míg a második megfigyelési időpontban a legjobb eredményt elérő kategóriába hat klón tartozott, melyek szignifikánsan nem különböztek egymástól (22. ábra), addig a harmadik megfigyelési időpontban (fertőzést követő hetedik nap) már csak 5 klónt sorolhattunk ebbe a kategóriába (23. ábra).



23. ábra. *In vitro* burgonyanövények hajtásainak átlagos fogékonysági értéke az *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* fertőzést követő hetedik napon. A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik

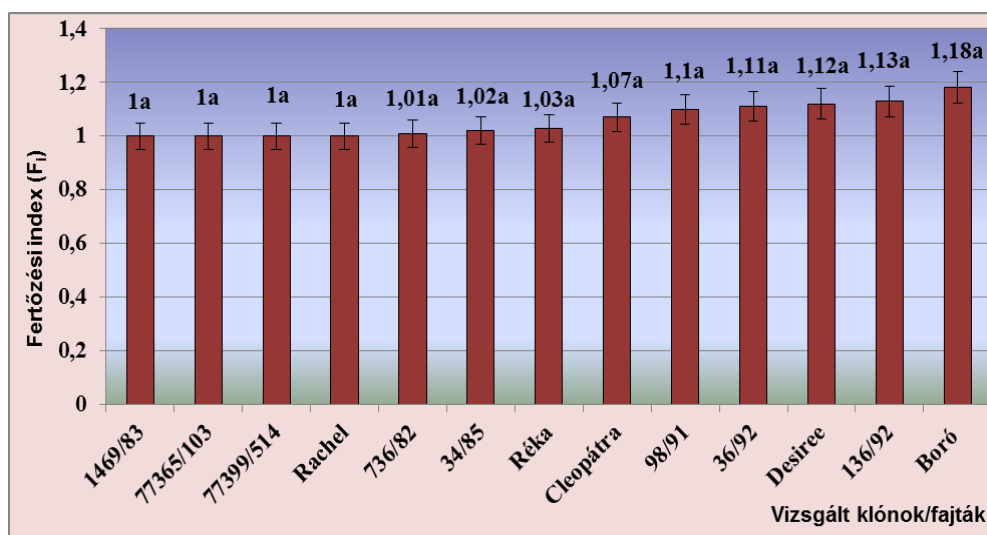
A klónok a fertőzőttégi kategóriák szerint a következőképpen csoportosíthatók:

- rezisztens: 77365/103 és a 'Rachel'
- mérsékelten rezisztens: 77399/514, a 'Réka' és a 'Cleopátra'
- mérsékelten fogékony: 'Desiree', 1469/83 és a 36/92
- fogékony: 136/92 és a 736/82
- erősen fogékony: 'Boró', 34/85 és a 98/91

5.2.1.2. A *Dickeya dadantii* fertőzés hatása

Az *Dd*-val történő fertőzések az *Pcc*-hoz hasonlóan történtek. A kísérleteket 2004 és 2008 között végeztük. Eredményeink szintén három független kísérlet összevont eredményeit tükrözik.

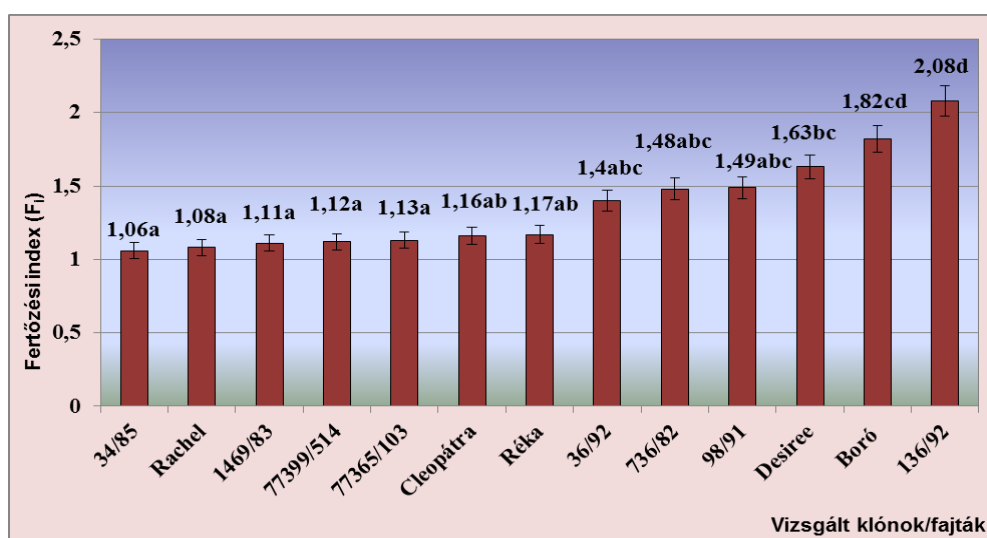
Az első megfigyelési időpontban, a fertőzést követő első napon (24. ábra) nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget a fajták között (2. melléklet 4-5. táblázat). Valamennyi fajtát azonos kategóriába soroltuk. A fertőzési indexek 1,0 és 1,18 között változtak. Hasonlóan a *Pcc*-val történő fertőzést követő állapothoz, itt is tünetmentesnek bizonyultak a következő klónok: 77365/103, 77399/514 és a 'Rachel', valamint ebben az esetben még ide kell sorolni az 1469/83 klónt. Az előző eredményekkel összevetve hasonlóság, hogy az itt legmagasabb fertőzési indexet produkáló 'Boró' az *Pcc*-val szemben is fogékonynak bizonyult, sőt a végső csoportosításnál az erősen fogékony kategóriába soroltuk.



24. ábra. *In vitro* burgonyanövények hajtásainak átlagos fogékonysági értéke az *Dickeya dadantii* fertőzést követő első napon. A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik

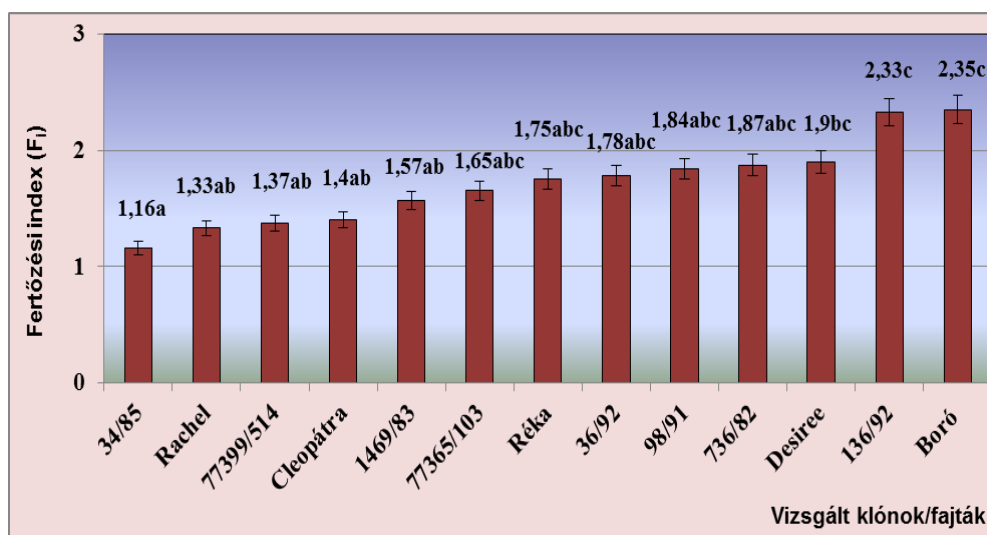
A második megfigyelési időpontban módosult a fajták sorrendje (25. ábra). A legjelentősebb változás a 34/85 klón helyében következett be. A legkisebb fertőzési index volt jellemző, $F_i = 1,06$, ami azért is érdekes, mert az *Pcc*-val szemben erősen fogékonynak bizonyult.

A legfogékonyabb ebben a megfigyelési időpontban a 136/92 klón volt, $F_i = 2,08$ értékkel. A fajták szignifikánsan elváltak egymástól, de ugyanaz a helyzet alakult ki, mint az *Pcc*-val szemben megfigyeltéknél. Öt genotípus (34/85, 'Rachel', 1469/83, 77399/514 és a 77365/103) alkotja a szignifikánsan legjobb eredményt produkálók csoportját, de ezek közül csak egy marad meg a harmadik megfigyelési időpontra, mely a legjobb eredményt érte el (2. melléklet 5. táblázat).



25. ábra. *In vitro* burgonyanövények hajtásainak átlagos fogékonysági értéke az *Dickeya dadantii* fertőzést követő harmadik napon. A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik

A harmadik megfigyelési időpontban (26. ábra) az *Dd*-val szemben legellenállóbb a 34/85 volt, mely egyedül alkotja a rezisztensek csoportját. A legfogékonyabbak a baktériummal szemben a 'Boró' és a 136/92. A fertőzési indexek az *Pcc*-hoz viszonyítva szűkebb tartományban mozogtak, 1,16 és 2,35 között változtak. Négy csoportba soroltuk a vizsgált genotípusokat, melyek közül a legtöbb a közepes kategóriákat képviseli, mérsékelt rezisztens és mérsékelt fogékony.



26. ábra. *In vitro* burgonyanövények hajtásainak átlagos fogékonyági értéke az *Dickeya dadantii* fertőzést követő hetedik napon. A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik

A klónok fertőzöttségi csoportosítása kategóriák szerint:

- rezisztens: 34/85
- mérsékelt rezisztens: 1469/83, 77399/514, 'Cleopátra', 'Rachel'
- mérsékelt fogékony: 77365/103, 36/92, 98/91, 736/82, 'Desiree' és a 'Réka'
- erősen fogékony: 136/92 és a 'Boró'

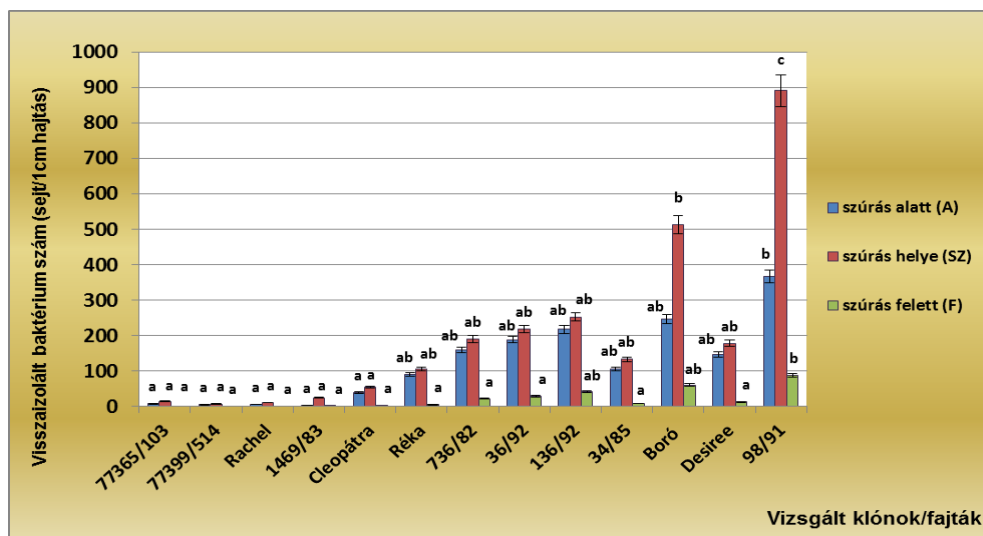
Összehasonlítva a mikroszaporított burgonyanövények *Pcc* és *Dd*-val történő fertőzési kísérleteinek eredményeit, megállapíthatjuk, hogy az *Pcc* erősebb tüneteket okozott az *in vitro* burgonyahajtásokon, mint az *Dd*. A fertőzési indexek *Pcc* esetén 1 és 4,69 között változtak a megfigyelési időpontokban. Ezzel szemben az *Dd* esetén jóval szűkebb tartományba (1-től 2,35-ig) estek ezek az értékek.

5.2.1.3. Baktérium sejtszám meghatározása

A *Pcc*-val történő fertőzést követően a baktérium sejtszám meghatározását a fertőzött növényi szövetekből visszaizolálás alapján végeztük. A fajták közötti különbségeket az összes hígítás átlagában a visszaizolálás helye szerint szeretném bemutatni. Két időpontban történt a

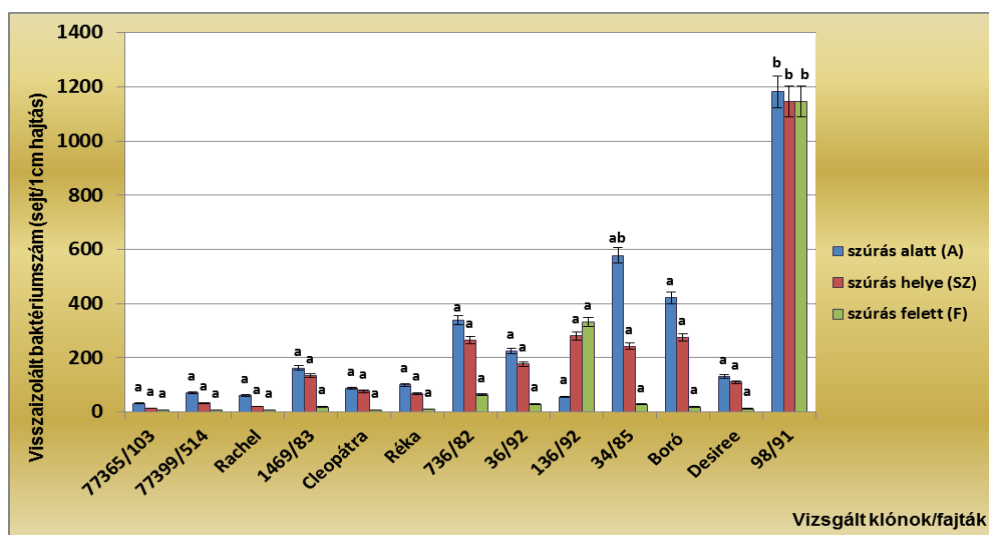
visszaizolálás: a fertőzést követő harmadik és hetedik napon a megfigyelési időpontokkal párhuzamosan.

A fertőzést követő harmadik napon történő visszaizolálás eredményét a 27. ábra és a 2. melléklet 6-7. táblázat mutatja be. Valamennyi vizsgált genotípusnál a szűrés környéki részből (SZ) sikerült a legtöbb baktériumot kitenyészteni. A fajták közötti eltéréseket tekintve elmondható, hogy mindhárom mintavételi helyen kiugróan magas baktérium sejtszámot kaptunk a 98/91 esetében, ami összhangban volt a hajtásfertőződés eredményeivel.



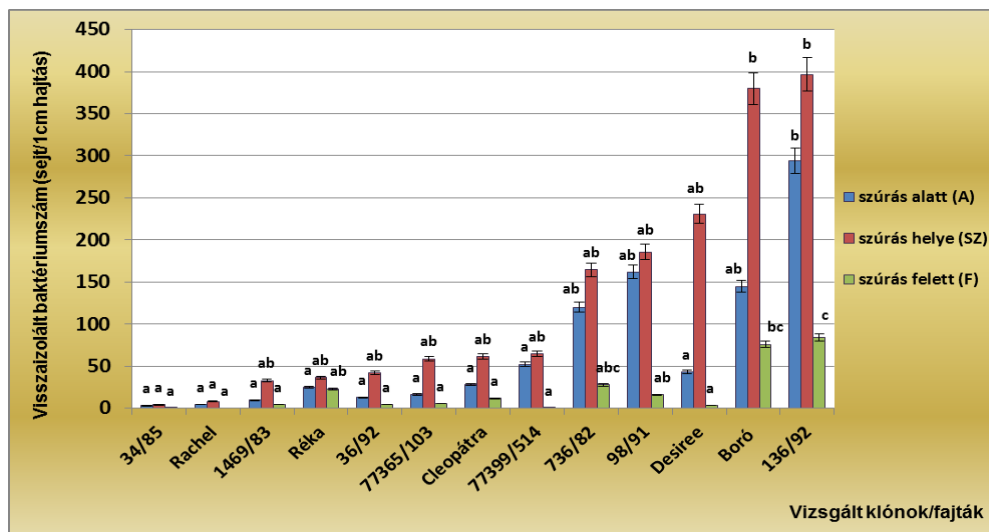
27. ábra. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* fertőzést követő harmadik napon mért baktérium sejtszám eredmények *in vitro* burgonya hajtásokon

A fertőzést követő hetedik napon történő visszaizoláláskor kapott eredményeket a 28. ábra és a 2. melléklet 8-9. táblázat foglalja össze. Jól látható, hogy a baktérium sejtszám a szűrés alatti mintavételi helyeken a legmagasabb egyetlen vizsgált klón kivételével. Mindebből arra következtethetünk, hogy a fertőzés a szárban lefelé terjed. A 98/91 itt is szignifikánsan eltért a többi fajtától. Ebben az esetben nem annyira egyértelmű a terjedés iránya, mindhárom mintavételi helyről magas baktérium sejtszámot tenyésztettünk ki, ami a fajta nagyfokú fogékonyságával magyarázható.



28. ábra. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* fertőzést követő hetedik napon mért baktérium sejtszám eredmények *in vitro* burgonya hajtásokon

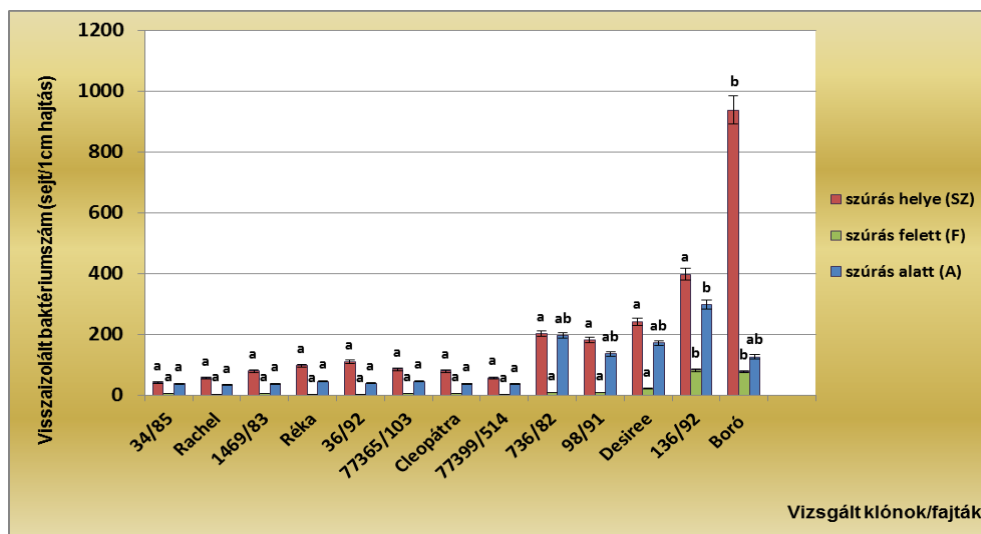
A *Dd*-val történő fertőzést követő harmadik napon kapott eredményekből hasonló következtetést tudunk levonni, mint az *Pcc*-val végzett kísérleteknél (29. ábra és a 2. melléklet 10-11. táblázat). A fertőzést követő harmadik nap a szűrés környéki mintákból izoláltuk vissza a legtöbb baktériumot. A fajták közötti eltérések párhuzamba állíthatók a hajtásfertőzéskor kapott eredményekkel. A 'Boró' és a 136/92 genotípusból vett mintákból izoláltuk vissza a legtöbb baktériumot, míg a legkevesebbet a 34/85 klónból.



29. ábra. *Dickeya dadantii* fertőzést követő harmadik napon mért baktérium sejtszám eredmények *in vitro* burgonya hajtásokon

A fertőzést követő hetedik napos visszaizolálásnál szintén a szűrés helyéről vett mintákból sikerült a legtöbb baktériumot visszaizolálni, akárcsak a harmadik napon (30. ábra és a 2. melléklet 12-13. táblázat). Ezzel párhuzamosan a szűrés alatti mintákban is jelentősen megnőtt a baktérium sejtszám, ami alátámasztja azt a feltételezésünket, hogy elsősorban lefelé terjed a

fertőzés a szárban. Úgy tűnik, hogy az *Dd* lassabban szaporodik és terjed a hajtásban, mint az *Pcc*. Ez alátámasztja azt is, hogy miért nem okozott az *Dd* olyan súlyos tüneteket az *in vitro* burgonyahajtásokon, mint a *Pcc*.



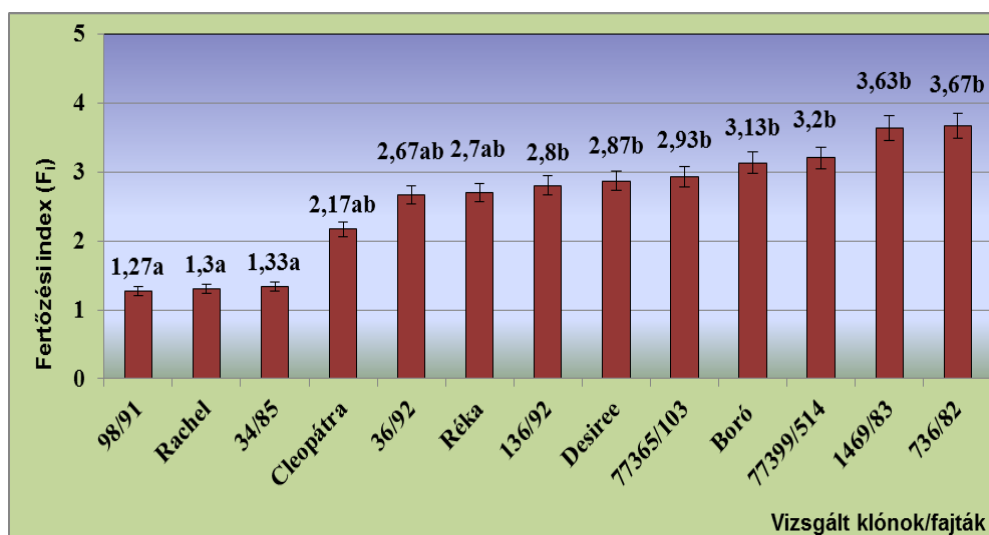
30. ábra. *Dickeya dadantii* fertőzést követő hetedik napon mért baktérium sejtszám eredmények *in vitro* burgonya hajtásokon

5.2.2. Burgonya mikrogumók fogékonyasága a gumófertőzés alapján

Az *in vitro* növény mellett az *in vitro* gumó a burgonya mikroszaporítás másik terméke. Ezért kidolgoztunk egy mikrogumó fertőzési technikát is, mellyel leteszteltük az előzőekben vizsgált burgonyafajtákat és klónokat. Az *in vitro* gumófertőzési kísérleteket 2004 és 2008 között végeztük.

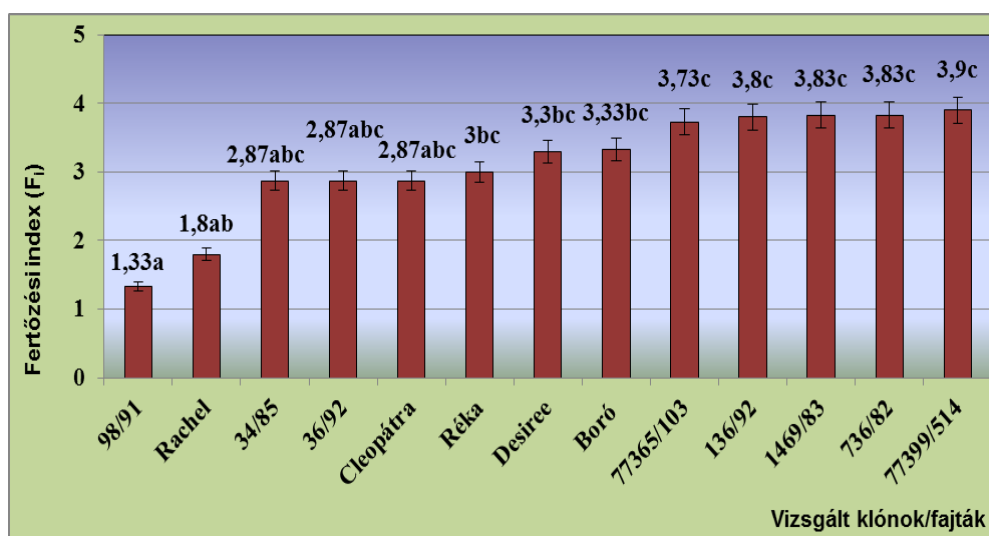
5.2.2.1. A *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* fertőzés hatása

Már az első megfigyelési időpontban (fertőzést követő első nap) szignifikáns különbségeket tapasztaltunk a fajták között (31. ábra és a 2. melléklet 14-15. táblázat). Legkevésbé fogékony a 98/91, 34/85 és a ‘Rachel’ volt. A ‘Rachel’ az *in vitro* hajtásfertőzés ugyanezen megfigyelési időpontjában szintén hasonló eredményt adott. Eltérés mutatkozik viszont a 98/91 klónnál, ami az *in vitro* hajtásfertőzéskor következetesen valamennyi megfigyelési időpontban a legfogékonyabbnak bizonyult. A 34/85 pedig szintén a fogékonyabb kategóriákat képviselte az *in vitro* hajtásfertőzéskor. Jelen megfigyelési időpontban még kevésbé válnak el az egyes fajták egymástól. Ezt mutatja az is, hogy statisztikailag egy csoportba tartozó „legfogékonyabbakat” hét genotípus képviseli az első megfigyelési időpontban.



31. ábra. *In vitro* burgonya gumók átlagos fogékonyági értéke az *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* fertőzést követő első napon. A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik

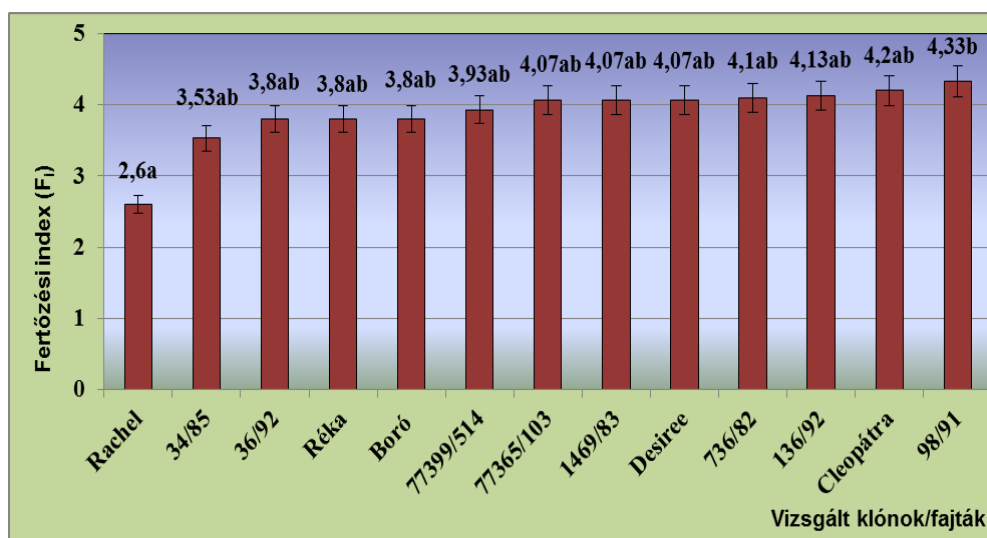
A második megfigyelési időpontban kapott eredményeket a 32. ábra mutatja be. Ebben az időpontban váltak el egymástól legjobban a fajták. Továbbra is a 98/91 a legellenállóbb. Ami hasonlóság az *in vitro* hajtásfertőzés ugyanezen időpontjában tapasztaltakkal, hogy a ‘Rachel’ mindkét esetben ellenállóbbnak bizonyult, valamint a 136/92 mindkét esetben fogékony volt.



32. ábra. *In vitro* burgonya gumók átlagos fogékonyági értéke az *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* fertőzést követő harmadik napon. A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik

Az utolsó megfigyelési időpontban (fertőzést követő hetedik nap) csak a ‘Rachel’ és a 98/91 válik el egymástól szignifikánsan (33. ábra). A ‘Rachel’ a teljes vizsgálat alatt ellenállónak bizonyult az *Pcc*-val szemben. A 98/91 viszont „meglepő” eredményt hozott, a fertőzést követő egy hét után a gumók több, mint 75%-a elrothadt. Ez azért is érdekes, mert a fertőzést követő

első két megfigyelési időpontban kapott eredmények alapján feltételezhetnénk, hogy egy ellenállóbb klónról van szó, ahol a gumó nem azonos módon reagál a fertőzésre, mint az *in vitro* hajtás. A kapott végeredmény összhangban van az *in vitro* hajtásfertőzés eredményével. Eltérésként említhető meg a korábbiakhoz képest, hogy az 77399/514 az első két megfigyeléskor határozottan fogékonynak bizonyult, a kísérlet végeredményében pedig egy közepes fogékonyságot tapasztaltunk.



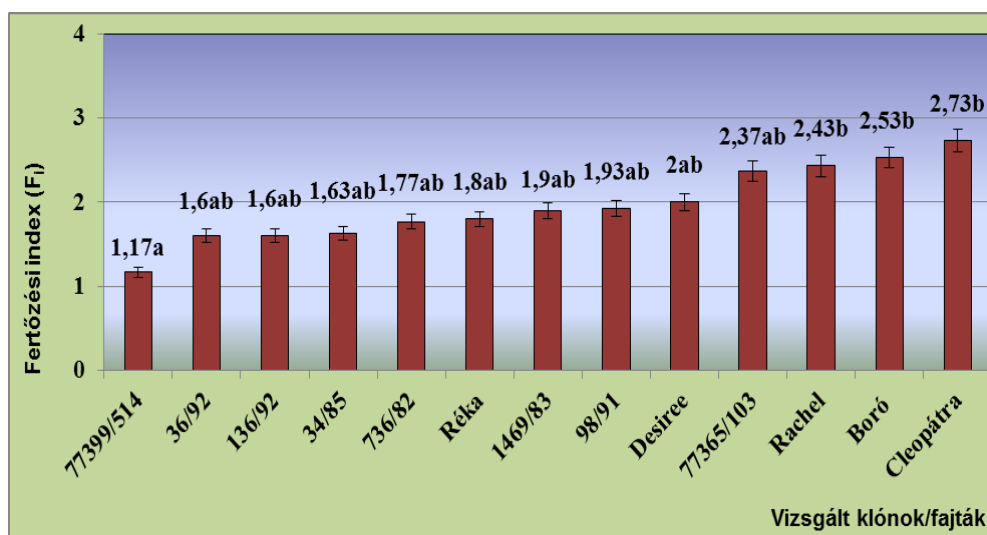
33. ábra. *In vitro* burgonya gumók átlagos fogékonysági értéke az *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* fertőzést követő hetedik napon. A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik

A klónok fertőzöttségi csoportosítása kategóriák szerint:

- rezisztens: ‘Rachel’
- mérsékelten fogékony: 34/85, 1469/83, 36/92, 77399/514, 136/92, 736/82, 77365/103, ‘Réka’, ‘Cleopátra’, ‘Desiree’ és a ‘Boró’
- erősen fogékony: 98/91

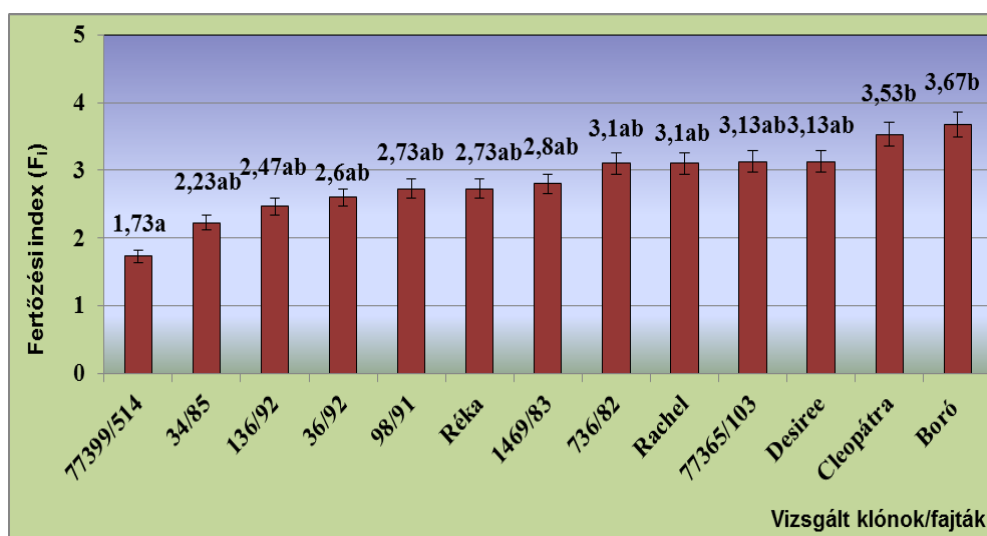
5.2.2.2. A *Dickeya dadantii* fertőzés hatása

Az első megfigyelési időpontban a 77399/514 szignifikánsan ellenállóbbnak bizonyult a ‘Rachel’, ‘Boró’ és ‘Cleopátra’ fajtákhoz képest (34. ábra és a 2. melléklet 16-17. táblázat). A *Pcc*-val szemben rezisztensnek ítélt ‘Rachel’ ebben az esetben fogékonynak bizonyult. Ezzel szemben a ‘Cleopátra’, mely itt a legfogékonyabb volt, a *Pcc*-val szemben ellenállóbbnak találtuk ugyanezen megfigyelési időpontban.



34. ábra. *In vitro* burgonya gumók átlagos fogékonysági értéke az *Dickeya dadantii* fertőzést követő első napon. A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik

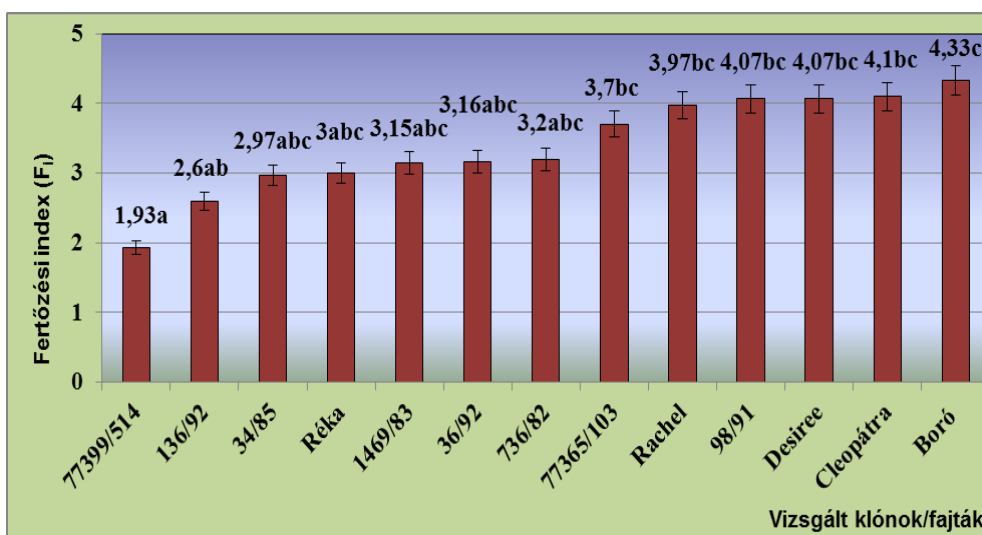
A második megfigyelési időpontban kapott eredményeket a 35. ábrán mutatom be. Az előzőhöz hasonlóan itt is a 77399/514 szignifikánsan ellenállóbb, mint a ‘Boró’ és a ‘Cleopátra’. Az *Pcc*-val történő fertőzések ugyanezen megfigyelési időpontjában legfogékonyabb 77399/514 az *Dd*-val szemben viszont a legellenállóbb volt. Az *Dd*-val végzett hajtásfertőzésekhez hasonlítva elmondható, hogy a ‘Rachel’ hajtásai ellenállóak voltak a baktériummal szemben, viszont a gumói már kevésbé, mérsékelt fogékonysággal jellemezhető. Az 77399/514 és 34/85 mindkét fertőzési módszer szerint ellenálló volt ugyanazon megfigyelési időpontban. A 136/82 esetében szintén nem egyformán reagált a hajtás és a gumó. Míg a hajtás a legfogékonyabb volt, addig a gumó mérsékelt fogékonysággal bírt. A ‘Cleopátra’ ugyancsak nem egyformán reagált a fertőzésre, gumója fogékonyabb volt az *Dd*-ra, a hajtása viszont mérsékelten fogékony.



35. ábra. *In vitro* burgonya gumók átlagos fogékonysági értéke az *Dickeya dadantii* fertőzést követő harmadik napon. A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik

Az utolsó megfigyelési napon az előző időponthoz képest a fajták sorrendjében drasztikus változások nem történtek (36. ábra). A 77399/514 továbbra is szignifikánsan ellenállóbb, de már csak a 'Boró' fajtától. Az *Pcc*-val összehasonlítva az ott ellenállóbbnak mutatózó 'Rachel' az *Dd*-val szemben mérsékelt fogékony volt, míg a 98/91 erős fogékonyságot mutatott az *Pcc*-val szemben, itt viszont szintén a közepes fogékonyságúak csoportjába soroltuk. Az *Dd*-val szemben rezisztens 77399/514 és a legfogékonyabb 'Boró' az *Pcc*-val szemben mérsékelt fogékonysággal bírt.

Az *in vitro* hajtásfertőzéssel összehasonlítva elmondható, hogy a 'Boró' gumója és hajtása is erősen fogékonyak bizonyult az *Dd*-val szemben. A 136/92 gumója mérsékelt rezisztens, míg a hajtása erősen fogékony volt. A 'Cleopátra' gumója mérsékelt fogékony, míg a hajtás fogékonyságát mérsékelt rezisztensnek ítéltük. A 'Desiree', a 98/91 és a 77365/103 hajtása és gumója is hasonlóan reagált a fertőzésre, mindkét esetben mérsékelt fogékonyak voltak.



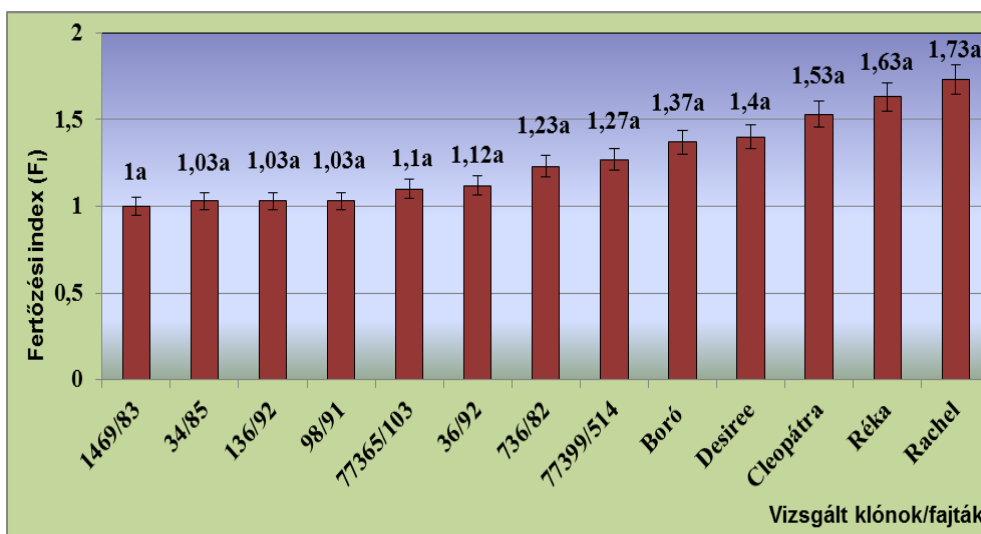
36. ábra. *In vitro* burgonya gumók átlagos fogékonysági értéke az *Dickeya dadantii* fertőzést követő hetedik napon. A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik

A klónok fertőzöttségi csoportosítása kategóriák szerint:

- rezisztens: 77399/514
- mérsékelt rezisztens: 136/92, 34/85, 1469/83, 36/92, 736/82, 'Réka'
- mérsékelt fogékony: 77365/103, 98/91, 'Cleopátra', 'Desiree' és a 'Rachel'
- erősen fogékony: 'Boró'

A kontroll kezelésben (2. melléklet 17. táblázat), amikor is steril desztillált vízbe mártott tűvel szúrtuk meg a gumókat, a fajták között statisztikai különbségeket nem találtunk. A második megfigyelési időpontban kapott eredményeket mutatja be a 37. ábra. Szignifikáns különbségeket ugyan nem kaptunk, de a fajták nem egyformán reagáltak az őket ért mechanikai sérülésre. A

legfogékonyabb a 'Rachel' volt, „fertőzési indexe” 1.73 lett. Ez azt jelenti, hogy a gumók közel 20%-a elrothadt a szűrés után három nappal. A legellenállóbb a 1469/83, ami gyakorlatilag tünetmentes volt.



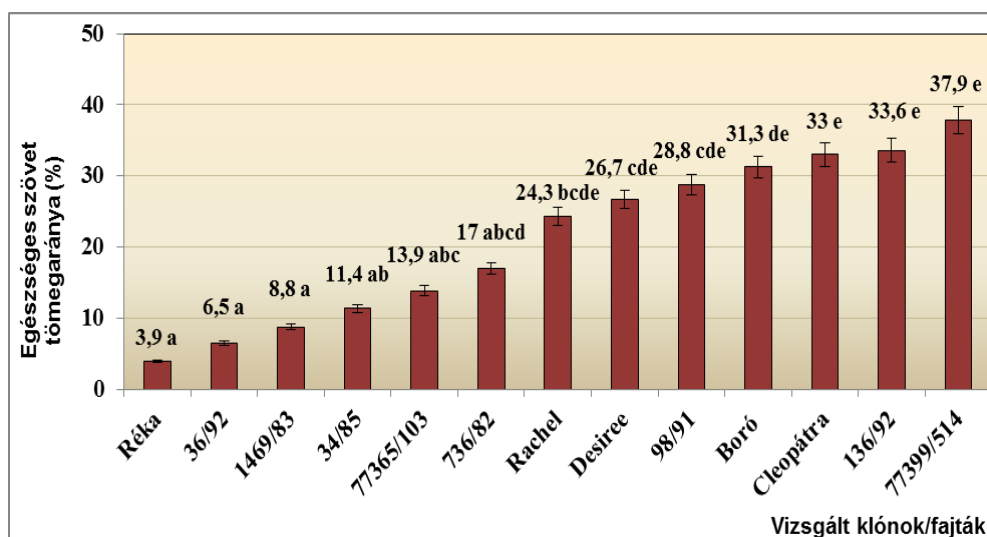
37. ábra. *In vitro* burgonya gumók átlagos fogékonysági értéke a kontroll kezelésben a második megfigyelési időpontban (fertőzést követő harmadik napon). A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik

5.2.3. Primer burgonyagumók fogékonysága a gumófertőzés alapján

Az üvegházi gumófertőzéseket 2006 és 2008 között végeztük. Egy-egy kísérlet alkalmával 20-20 korongot fertőztünk genotípusonként és 5 db korongot használtunk a kontroll kezelésekben. A kísérletek eredményeit a három év átlagában értékeltük ki.

5.2.3.1. A *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* fertőzés hatása

Az üvegházi gumók fertőzésének módszerével vizsgálva a fajtákat megállapíthatjuk, hogy a legellenállóbb a 77399/514 volt a 37,86%-os egészséges szövettömeg arányával. A legfogékonyabbnak a 'Réka' mutatkozott, az egészséges szövetaránya 3,87% volt. Ezzel a módszerrel rezisztensnek ítélt 'Boró' és 'Cleopátra', valamint a 136/92 az *in vitro* gumófertőzéskor közepes fogékonyságot mutattak. A 36/92 és az 1469/83 mindkét gumófertőzés során fogékonyak bizonyultak (38. ábra és 2. melléklet 18-19. táblázat).



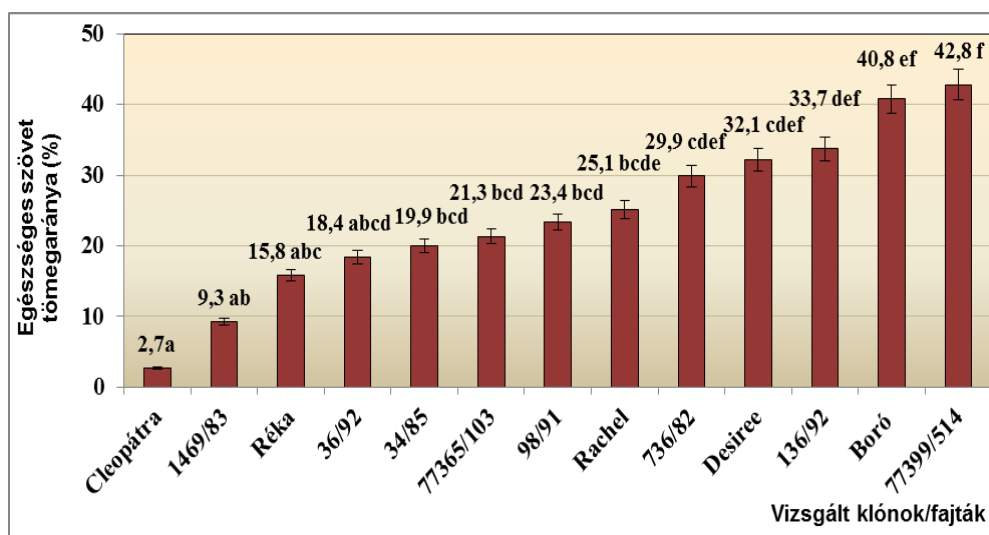
38. ábra. Üvegházi burgonyagumók átlagos fogékonyági értéke az *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*-val történő fertőzési kísérletének eredményei alapján. A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik

A klónok fertőzöttségi csoportosítása kategóriák szerint:

- rezisztens: 136/92, 77399/514, 'Boró', és a 'Cleopátra'
- mérsékelten rezisztens: 98/91, 'Desiree' és a 'Rachel'
- mérsékelten fogékony: 34/85, 77365/103 és a 736/82
- fogékony: 36/92 és a 1469/83
- erősen fogékony: 'Réka'

5.2.3.2. A *Dickeya dadantii* fertőzés hatása

A fertőzési eredményeket a 39. ábra és a 2. melléklet 20-21. táblázata foglalja össze. A legfogékonyabb a 'Cleopátra' volt, mely szignifikánsan is elvált a többi fajtától. Hasonló eredményt mutatott az *in vitro* gumófertőzéskor is. A 136/92 mindkét gumófertőzéskor ellenállóbbnak bizonyult. Ebben az esetben rezisztens 'Boró' és 'Desiree' mind az *in vitro* gumófertőzéskor, mind az *in vitro* hajtásfertőzéskor fogékonyak bizonyultak. Az 1469/83 klónt mind az *in vitro* gumófertőzéskor, mind az *in vitro* hajtásfertőzéskor mérsékelten rezisztens csoportba soroltuk, jelen esetben viszont fogékonyak bizonyult.



39. ábra. Üvegházi burgonyagumók átlagos fogékonyági értéke az *Dickeya dadanti*-vel történő fertőzési kísérletének eredményei alapján. A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik

A klónok fertőzöttségi csoportosítása kategóriák szerint:

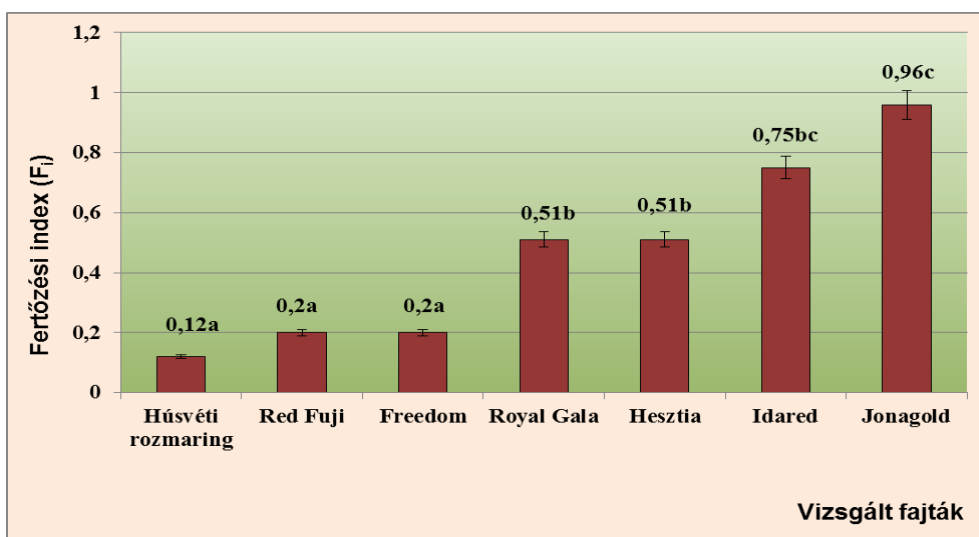
- rezisztens: ‘Desiree’, ‘Boró’, 136/92 és a 77399/514
- mérsékelten rezisztens: 736/82, 98/91, 77365/103 és a ‘Rachel’
- mérsékelten fogékony: ‘Réka’, 36/92 és a 34/85
- fogékony: 1469/83
- erősen fogékony: ‘Cleopátra’

Ha a módszeren belül a két kórokozót hasonlítom össze, akkor elmondható, hogy ‘Boró’, a 136/92 és a 77399/514 mindkét baktériumfajjal szemben rezisztensnek bizonyult. A ‘Cleopátra’ viszont az *Dd*-val szemben erősen fogékony volt, addig az *Pcc*-val szemben rezisztens lett. A ‘Réka’ és a 1469/83 mindkét baktériummal szemben fogékonyak bizonyult.

5.3. Almafajták fogékonysága

Almafajták esetében *in vitro* hajtásfertőzési kísérleteket 2012 és 2013-ban végeztük. Az első megfigyelési időpontban, a fertőzést követő második napon kapott eredményeket a 40. ábra szemlélteti. A fertőzést követő rövid időtartam ellenére egyik fajta sem bizonyult tünetmentesnek. A 'Húsvéti rozsmaring', a 'Red Fuji' és a 'Freedom' statisztikailag nem vált el egymástól. Ezek adták ebben a megfigyelési időpontban a legjobb eredményt. Ugyancsak azonos, mérsékelt fogékonyságú csoportba tartozott a 'Tenroy' (Royal Gala) és a 'Hesztia'. Szignifikánsan a 'Jonagold' esetében figyeltük meg a „legrosszabb” eredményt, mivel fertőzési indexe közel 1-es értékű volt.

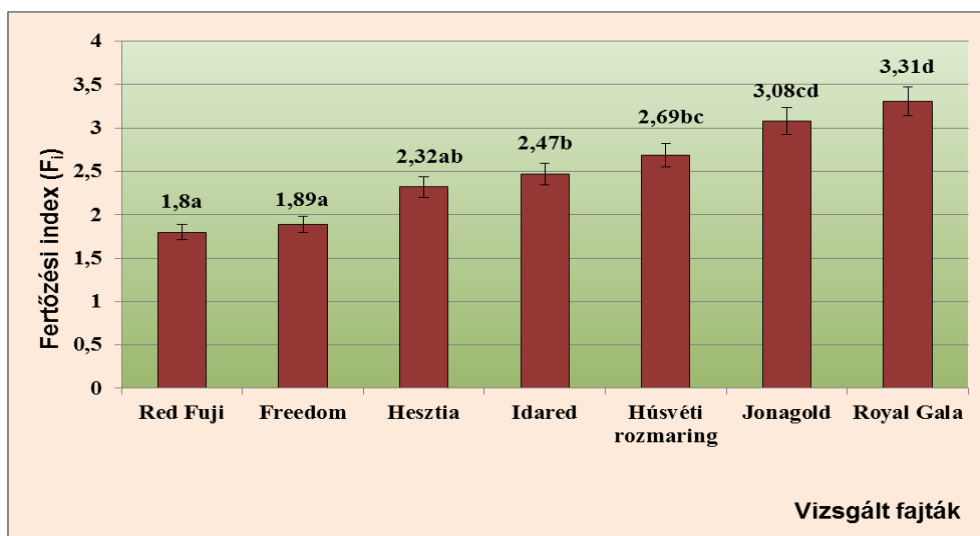
A fertőzési index értékek 0,12 és 0,96 között alakultak. A tüneteket nézve ez annyit jelentett, hogy még a legfogékonyabb fajtánál is csak egy-két egyednél fordult elő az, hogy a fertőzés a megvágott levél főerére is áttért. Jellemzőbb volt, hogy a megvágott levél vágási felülete megbarnult, vagy el sem színeződött (40. ábra).



40. ábra. *In vitro* almahajtások átlagos fogékonysági értéke az *Erwinia amylovora* fertőzést követő második napon. A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik

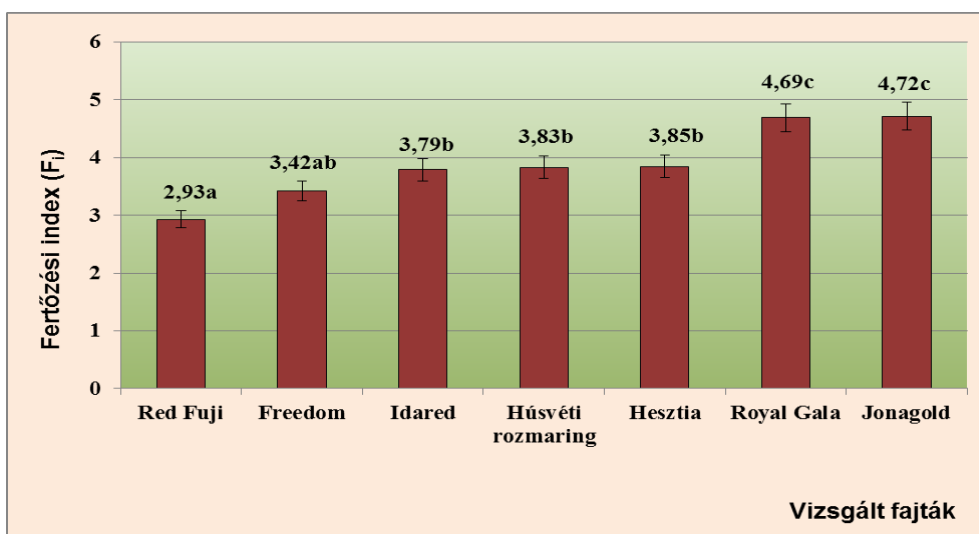
A második megfigyelési időpontban (fertőzést követő ötödik nap) a legjobb eredményt a 'Red Fuji' és a 'Freedom' esetében figyeltük meg, de ezektől a fajtáktól szignifikánsan nem vált el a 'Hesztia' értéke annak ellenére, hogy egy kicsit magasabb fertőzési indexet produkált ($F_i = 2,32$). A leggyengébb eredményt a 'Tenroy' (Royal Gala) és a 'Jonagold' adta, melyek között szintén nem tudtunk szignifikáns különbséget tenni annak ellenére, hogy fertőzési indexük jelentősen eltér és a vizuálisan megfigyelhető tüneteikben is szemmel látható különbség volt. Mérsékelt

fogékonyságot figyeltünk meg az ‘Idared’ és a ‘Húsvéti rozsmaring’ esetében, melyek statisztikailag szintén egy csoportot képeztek (41. ábra).



41. ábra. *In vitro* almahajtások átlagos fogékonysági értéke az *Erwinia amylovora* fertőzést követő ötödik napon. A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik

Az utolsó megfigyelési időpontban (fertőzést követő nyolcadik nap) a fajták kevésbé váltak el egymástól, mint az előző időpontban. Szignifikánsan itt is a ‘Red Fuji’ és a ‘Freedom’ esetében tapasztaltuk a legjobb eredményeket. Ezekről a fajtáktól szignifikánsan vált el az ‘Idared’, a ‘Húsvéti rozsmaring’ és a ‘Hesztia’. Legnagyobb fertőzöttség ebben a megfigyelési időpontban is a ‘Tenroy’ (Royal Gala) és a ‘Jonagold’ esetében volt megfigyelhető. A fertőzési indexek 2,93 és 4,72 között alakultak (42. ábra és a 2. melléklet 22-23. táblázat). Mivel a legfogékonyabb fajták *in vitro* növényeinek kb. 80%-a elpusztult, ezért további megfigyeléseknek már nem láttuk értelmét.

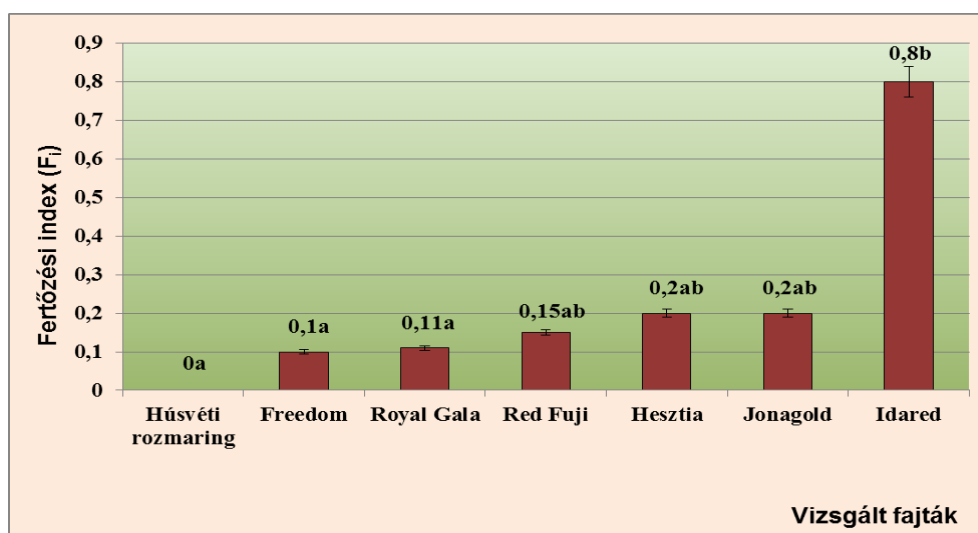


42. ábra. *In vitro* almahajtások átlagos fogékonysági értéke az *Erwinia amylovora* fertőzést követő 8. napon. A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik.

A fertőzést követő ötödik napon kapott eredményeket figyelembe véve a következő kategóriákba sorolhatók a fajták:

- rezisztens: ‘Red Fuji’ és a ‘Freedom’
- mérsékelten rezisztens: ‘Hesztia’
- mérsékelten fogékony: ‘Idared’, ‘Húsvéti rozsmaring’ és a ‘Jonagold’
- erősen fogékony: ‘Tenroy’ (Royal Gala)

A kontroll kezelés során steril desztillált vízbe mártott ollóval vágtuk félbe a leveleket. A fajták ebben az esetben az őket ért mechanikai sérülésre reagáltak. A kontroll kezelés első két megfigyelési időpontjában statisztikailag nem volt különbség a fajták között (2. melléklet 23. táblázat). A megfigyelés harmadik napján viszont már volt statisztikai különbség a fajták között. A ‘Húsvéti rozsmaring’, a ‘Freedom’ és a ‘Tenroy’ szignifikánsan érzékenyebbek voltak a mechanikai sérülésre, mint az ‘Idared’. A ‘Red Fuji’, a ‘Hesztia’ és a ‘Jonagold’ mérsékelt érzékenységet mutattak az őket érő fizikai sérülésre. A mechanikai sérülés az ‘Idared’-en okozta a legsúlyosabb elváltozásokat (43. ábra).

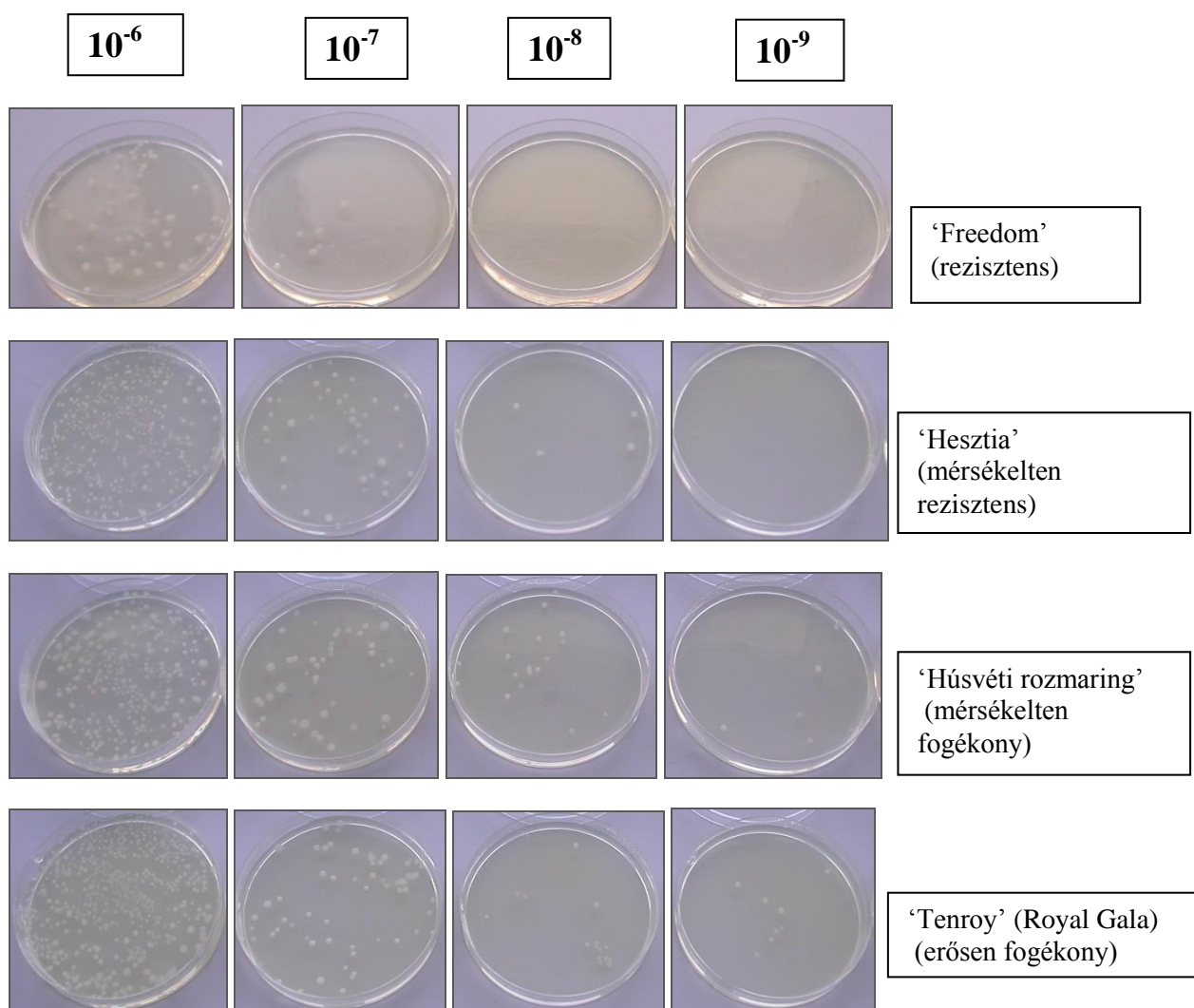


43. ábra. *In vitro* almahajtások átlagos fogékonysági értéke a kontroll kezelésben a harmadik megfigyelési időpontban (fertőzést követő nyolcadik napon). A fajták szignifikánsan ($p < 0,05$) különböző csoportokba sorolását eltérő betűk jelölik

5.3.1. Baktérium sejtszám meghatározása

In vitro almahajtások esetében is végeztünk visszaizolálásokat a fertőzött növényi részekből. Ennek eredményét a 44. ábra mutatja be, mely a különböző fogékonysági kategóriákba sorolt fajták visszaizolási eredményeit szemlélteti négy hígítás (10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9}) alkalmazásával. A fertőzést követő ötödik napon végzett visszaizolálás szépen tükrözi a különböző fogékonyságú fajták *in vitro* hajtásában végbemenő baktérium sejtszaporodást. A ‘Freedom’ szemmel láthatóan különbözött a többi fajtától. Egy rezisztens fajtában a baktériumsejtek szaporodása is kisebb mértékű (Honty, 2010) és a mi eredményeink is ezt tükrözik. A ‘Hesztia’, ‘Húsvéti

rozsmaring' és 'Tenroy' (Royal Gala) eredményei már kevésbé látványosak, 10^{-6} hígításnál a 'Tenroy' esetében tapasztaltuk a legintenzívebb sejtszaporodást, ami egy erősen fogékony fajtánál teljesen logikus. Ha a nagyobb hígításokat vesszük figyelembe, láthatunk különbségeket a közepes fogékonyságú fajták között is. 10^{-8} -as hígításnál a 'Hesztia' és a 'Húsvéti rozsmaring' vizsgálatánál minimum tízszeres különbséget tapasztaltunk a kolóniák számában az utóbbi fajta javára. A fogékonyabb fajták értékeléséhez a nagyobb hígításokra (10^{-8} , 10^{-9}) volt szükség. Az ábrán is jól látható, hogy a 'Freedom' és a 'Hesztia' mintáiból a 10^{-9} -nál már nem tudtunk kolóniákat számolni, ezzel ellentétben a fogékonyabb 'Húsvéti rozsmaring' és 'Tenroy' (Royal Gala) fajtáknál még ennél a hígításnál is számolhatóak a telepek.



44. ábra. 'Freedom', 'Hesztia', 'Húsvéti rozsmaring' és 'Tenroy' (Royal Gala) almahajtásokból visszaizolált *Erwinia amylovora* kolóniák különböző hígításoknál

5.4. Biokémiai vizsgálatok eredményei

Előkísérleteket végeztem annak kiderítésére, hogy a mikroszaporított burgonya és alma esetében a különböző fertőzések által okozott stressz nyomon követhető-e a peroxidáz enzimaktivitás és a szénhidráttartalom mérésekkel. Az elképzelés megvalósításának nehézsége az volt, hogy nagyon kicsi növénymintákkal dolgoztunk, egy-egy *in vitro* hajtásdarab súlya néhány mg volt. Sajnos ez magában rejti annak a lehetőségét, hogy nagyobb hibát tudtunk elkövetni. Ezért a kísérletek eredményeinek tárgyalásánál figyelembe kell venni a mintavételből származó hibákat, hiányosságokat. A biokémiai vizsgálatokhoz az *in vitro* növényfertőzés eredményei alapján választottuk ki a különböző fogékonyságú genotípusokat.

5.4.1. Peroxidáz enzimaktivitás változások *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* fertőzés következtében

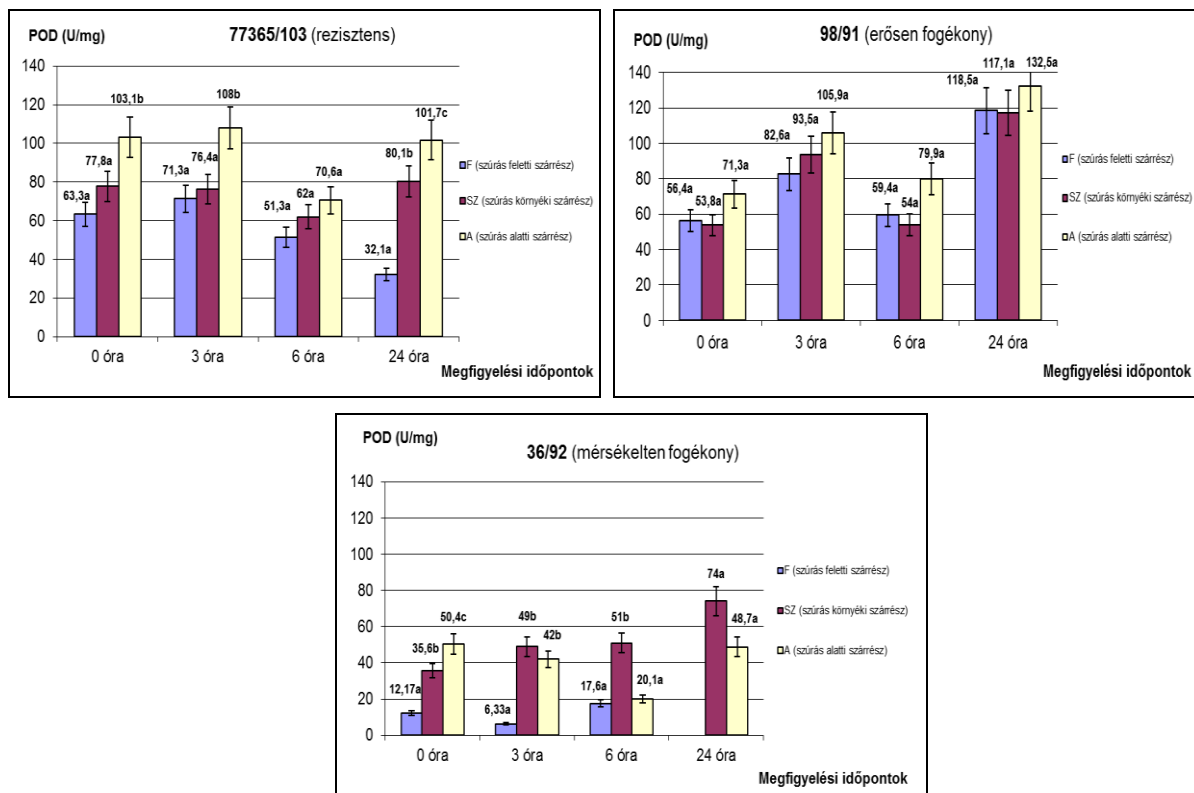
A kiválasztott klónok: 77365/103 (rezisztens), 36/92 (mérsékelten fogékony) és 98/91 (erősen fogékony).

Az eredmények értékelésénél figyelembe kell venni, hogy volt olyan eset, mikor kevés növényanyag állt rendelkezésemre, ezért fordulhatott elő, hogy a 24 órás mintavételkor egy mintavételi helyről a mérsékelten fogékony klónból nem sikerült megfelelő súlyú mintát begyűjteni (45. ábra).

A fertőzést követő azonnali mintavételt (0 órás) tekintettük kontrollnak. Az itt kapott értékek jelentik a növények azon aktivitását, mellyel természetes módon rendelkeznek. Egyértelműen látszik, hogy az eltérő fogékonyságú klónok között különbségek vannak aktivitásukat tekintve. Bár a szúrás feletti (F) szár részben ez kevésbé volt látványos, de a szúrás alatti (A) szár részben szépen látszik, hogy a rezisztens 77365/103 klónban (103,1 U/mg) több mint 30%-kal magasabbak a POD értékek, mint az erősen fogékony 98/91 klónban (71,3 U/mg). A mérsékelten fogékony 36/92 aktivitása még az erősen fogékony klónnál is alacsonyabb volt (50,4 U/mg).

A fertőzés hatására a kontrollhoz képest változik a POD aktivitás a növényekben, mégpedig úgy, hogy a fertőzést követő harmadik óráig enyhén növekszik az enzimaktivitás, majd a fertőzést követő hatodik órában jelentősen lecsökken és ezt követően újra emelkedni kezd. Ez a tendencia különösen a rezisztens és erősen fogékony klónban követhető és legszembetűnőbb a szúrás alatti (A) szár részben. Az enzimaktivásban változás tehát a fertőzést követő hatodik órában mértük, amikor lecsökken a POD aktivitás. Ez a változás azonban nem tartós, a fertőzést követő 24 órával kiegyenlítődik, sőt még meg is haladhatja a kontroll értéket. Az erősen

fogékony 98/91 klónban a kontrollhoz (71,3 U/mg) képest közel duplájára nő az enzimaktivitás a fertőzést követő 24 óra múlva (132,5 U/mg). A rezisztens 77365/103 klónban viszont kiegyenlítődik a POD értéke. A mérsékelten fogékony 36/92 klónban ugyancsak duplájára nő az enzimaktivitás a kontrollhoz képest 24 óra alatt. Úgy tűnik, hogy a növény kompenzálni akarná a szöveteiben zajló változásokat, arra törekedve, hogy az eredeti állapotokat visszaállítsa (45. ábra).



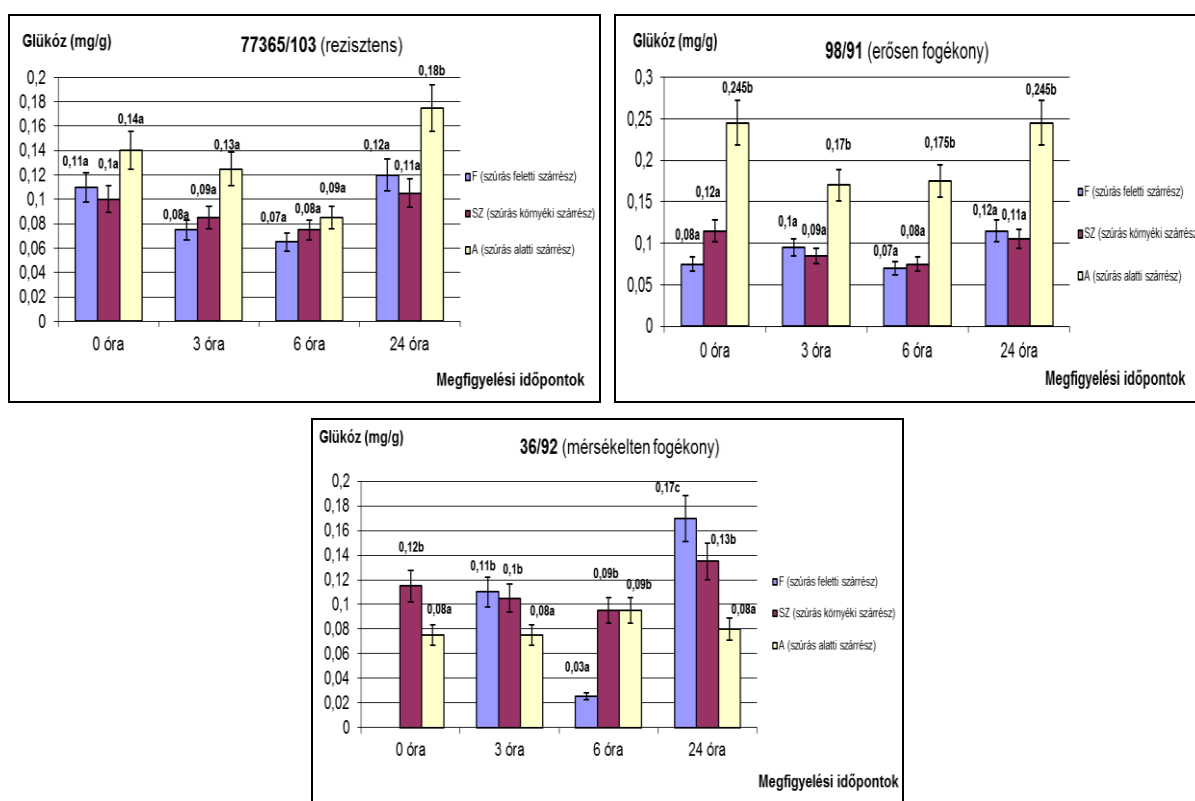
45. ábra. Peroxidáz enzimaktivitás változása a 77365/103 (rezisztens), a 36/92 (mérsékelten fogékony) és a 98/91 (erősen fogékony) *in vitro* burgonyanövényekben *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* fertőzést követően

5.4.2. Szénhidráttartalom alakulása *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* fertőzés következtében

Burgonya esetében glükóz- és fruktóztartalmat mértünk. Kontrollnak továbbra is a közvetlenül a fertőzéssel egyidejű, 0 órás mintavétel eredményeit tekintettük. Ez volt az eltérő fogékonyságú *in vitro* növények endogén glükóztartalma. Az erősen fogékony 98/91 klónban figyeltük meg a legmagasabb glükóztartalmat (0,245 mg/g), megközelítőleg másfélszer több glükózt mértünk a szűrés alatti (A) szárrészekben, mint a rezisztens 77365/103 ugyanazon mintavételi helyén (0,14 mg/g) (46. ábra).

A fertőzés hatására a rezisztens 77365/103 klónban a kontrollhoz képest csökkenés indul meg a fertőzést követő harmadik és hatodik órában. A minimumot a hatodik órában éri el (0,085

mg/g), majd ezt követően emelkedni kezd és a fertőzés után 24 órával kiegyenlítődik a glükóz szint. Az erősen fogékony 98/91 klónban ugyanez a folyamat játszódik le, de a csökkenés nagyobb mértékű, 0,245 mg/g-ról lecsökken 0,17 mg/g-ra. A fertőzést követő 24 óra múlva visszaáll a kontroll értékre a glükóz szint. A mérsékelten fogékony 36/92 klónban ugyanezt figyelhetjük meg, mint az eddigieknél, viszont a csökkenés mértéke itt a legkisebb, 0,115 mg/g-ról 0,095 mg/g-ra módosul a fertőzés után hat órával. Ekkor éri el a minimumát, de ezt követően emelkedni kezd a glükóz szint és 24 órával a fertőzés után meg is haladja a kontroll értéket. Tehát a glükóztartalomban bekövetkező változások a fertőzést követő három és hat óra közé tehetők, akár csak az enzimaktivitás változásoknál. A folyamat során a glükóz szint minden esetben kiegyenlítődik, sőt meg is haladhatja a kontroll értéket (46. ábra).

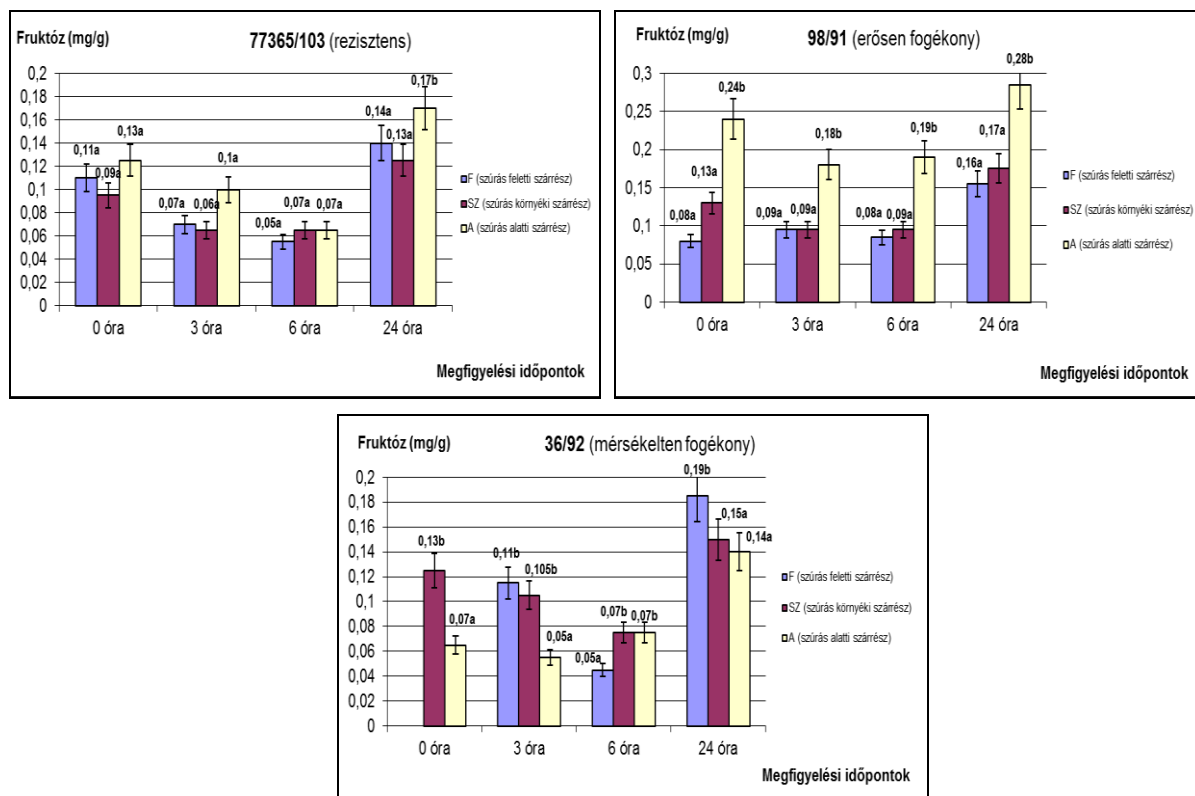


46. ábra. Glükóztartalom változás a 77365/103 (rezisztens), a 36/92 (mérsékelten fogékony) és a 98/91 (erősen fogékony) *in vitro* burgonynövényekben *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* fertőzést követően

A kiindulási fruktóztartalmáról ugyanaz mondható el, mint a glükóz esetében. Az erősen fogékony klónban figyeltük meg a legmagasabb fruktóztartalmat (0,24 mg/g), ennél kb. 50 %-kal kisebb értéket mértünk a rezisztens klón ugyanazon szárrészében (0,125 mg/g).

A fertőzés hatására bekövetkező változások tendenciája ugyanaz, mint a glükóz esetében, de a változások markánsabbak. A fruktóz szint ebben az esetben is az inokulálást követő hatodik óráig csökken, majd emelkedni kezd és a 24. órára kiegyenlítődik, sőt minden esetben meg is haladja a kontroll értéket. A rezisztens klónban 0,125 mg/g-ról 0,17mg/g-ra nő a fruktóz

menyisége. Az erősen fogékony klónban jóval kisebb mértékű a növekedés, 0,24 mg/g-ról csupán 0,285 mg/g-ra változik. A legnagyobb változás a mérsékeltten fogékony klónban következik be, itt duplájára nő a fruktóz mennyisége a fertőzés hatására a kezdeti értékekhez képest, 0,065 mg/g-ról 0,14 mg/g-ra emelkedik (47. ábra).



47. ábra. Fruktóztartalom változása a 77365/103 (rezisztens), a 36/92 (mérsékeltten fogékony) és a 98/91 (erősen fogékony) *in vitro* burgonynövényekben *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* fertőzést követően

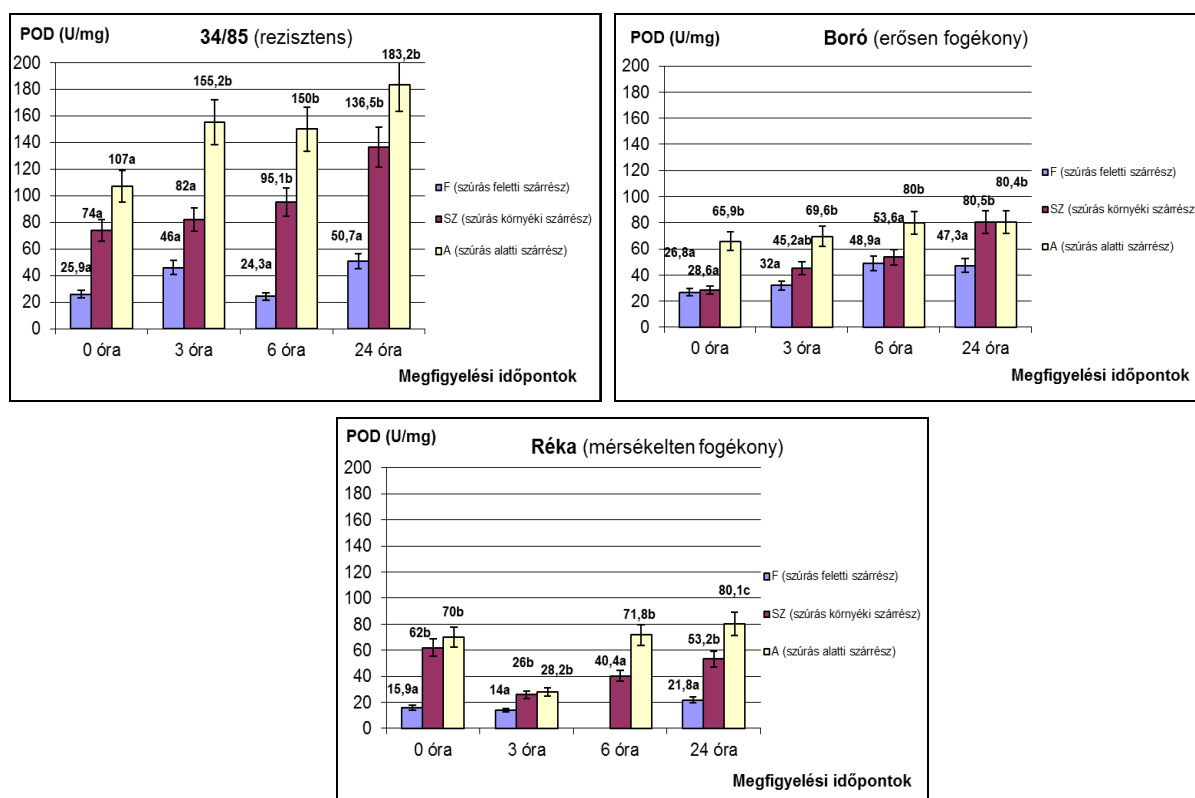
5.4.3. Peroxidáz enzimaktivitás változások *Dickeya dadantii* fertőzés következtében

A kiválasztott genotípusok: 34/85 (rezisztens), 'Réka' (mérsékeltten fogékony) és 'Boró' (erősen fogékony).

Ebben az esetben is a 0 órás mintavételt vettük kontrollnak. A *Pcc*-nál tapasztaltakhoz hasonlóan itt is elmondható, hogy a különböző fogékonysággal rendelkező burgonya genotípusok aktivitása eltér egymástól. Ebben az esetben is a rezisztens 34/85 klónban mértük a magasabb POD aktivitást az erősen fogékony 'Boró' és a mérsékeltten fogékony 'Réka'-hoz képest.

A kontrollhoz viszonyítva szintén bekövetkezik változás a fertőzés hatására, mely a rezisztens klónban és az erősen fogékony fajtában egy emelkedő tendenciát mutat. A mérsékeltten fogékony fajtában van egy csökkenés a fertőzést követő harmadik órában, de ez kiegyenlítődik az utolsó mintavételi időpontra (24 óra). A kontrollhoz képest mindhárom fogékonyságú genotípusban

emelkedik a POD aktivitás a 24. órára. Az erősen fogékony fajtában a szűrés környéki (SZ) szárrészekben a fertőzést követő 24. órára kb. duplájára nő az enzimaktivitás a kontrollhoz képest. 36,3 U/mg-ról 80 U/mg-ra változik 24 óra alatt. A rezisztens klónban ez a növekedés kicsit kisebb, 74 U/mg-ról 137 U/mg-ra változik. Az, hogy a rezisztens klónban és az erősen fogékony fajtában a változások hasonlóak, az megegyezik az *Pcc*-nál tapasztaltakkal. Ez a változás viszont tartós, mivel feltételezhetően egy folyamatos emelkedésről van szó (48. ábra).



48. ábra. Peroxidáz enzimaktivitás változása a 34/85 (rezisztens), a 'Réka' (mérsékelten fogékony) és a 'Boró' (erősen fogékony) *in vitro* burgonyónövényekben *Dickeya dadantii* fertőzést követően

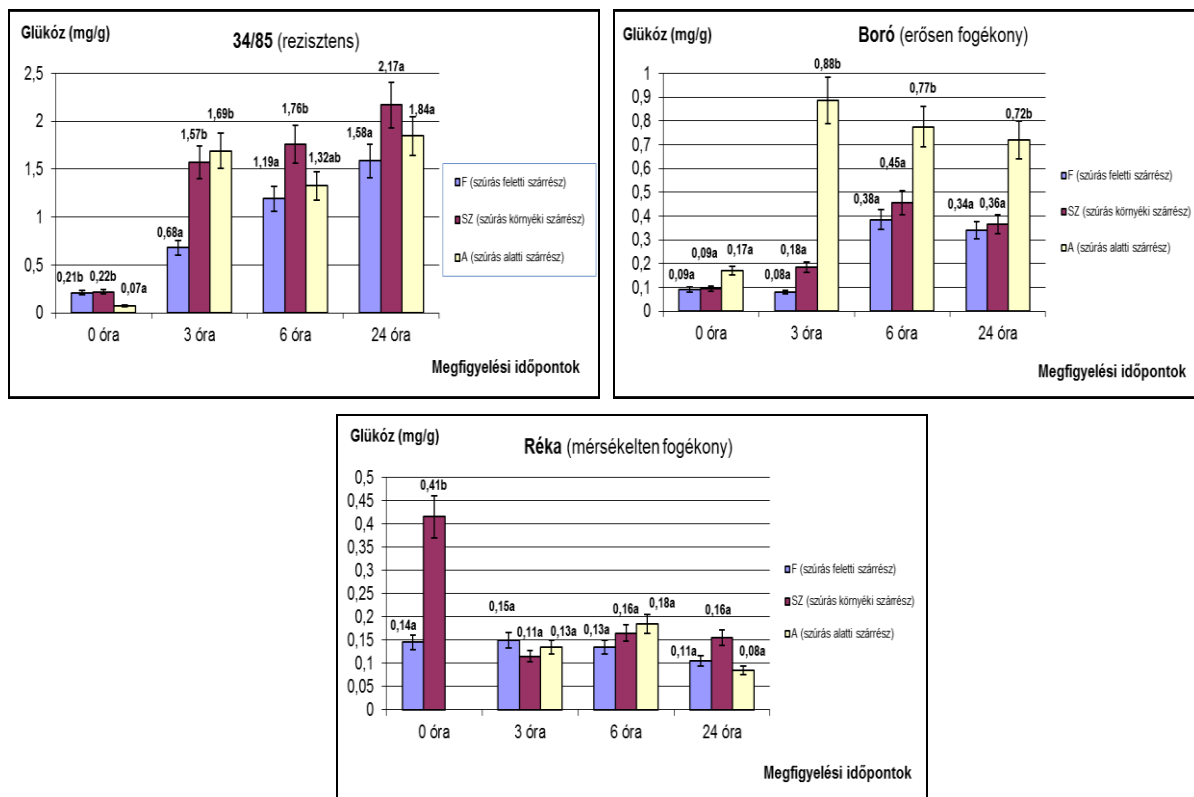
5.4.4. Szénhidráttartalom alakulása *Dickeya dadantii* fertőzés következtében

Sajnos hiányzó adatunk ebben az esetben is volt, a mérsékelten fogékony 'Réka' esetében a szűrés alatti (A) szárrészben nem tudtuk megmérni a kiindulási glükóz értéket.

A hiányosságok ellenére a szűrés alatti (A) területeket vesszük figyelembe, akkor ugyanazt a megállapítást tehetjük, mint az *Pcc* esetében, azaz az erősen fogékony 'Boró' fajtában (0,17 mg/g) kétszer annyi glükóz van, mint a rezisztens 34/85 klónban (0,075 mg/g) (49. ábra).

Dd-val történő fertőzés hatására a kontrollhoz képest egy folyamatos glükóz emelkedést tapasztaltunk, tehát nincs meg az a három és hat óra közötti csökkenés, amit a *Pcc*-nál megfigyeltünk. A fertőzést követő 24 órával a rezisztens klónban a kontrollhoz képest több, mint húszszorosára emelkedett a glükóz mennyisége, 0,075 mg/g-ról 1,845 mg/g-ra nőtt. A

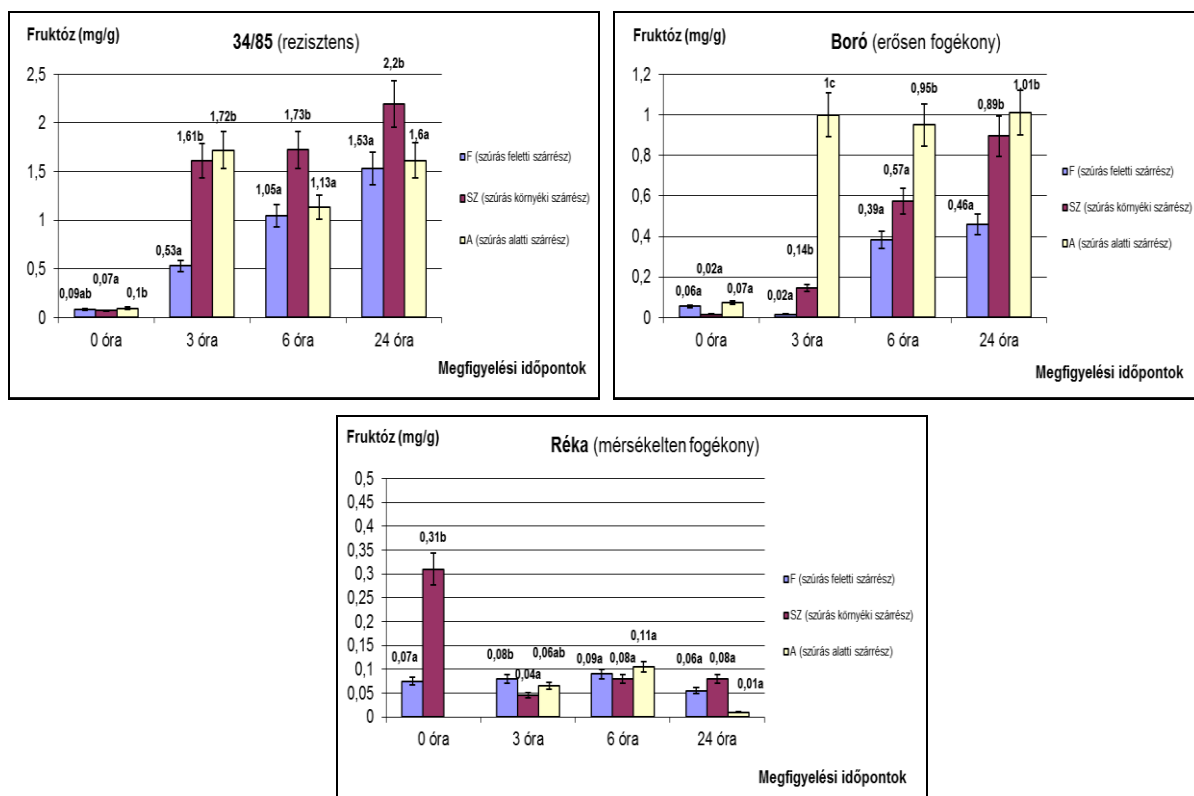
mérsékelten fogékony fajtában csökkent, míg az erősen fogékony fajtában 0,17 mg/g-ról 0,72 mg/g-ra emelkedett, tehát közel megnégyesződött a glükóz mennyisége az inokulálást követő 24 óra alatt (49. ábra).



49. ábra. Glükóztartalom változása a 34/85 (rezisztens), a 'Réka' (mérsékelten fogékony) és a 'Boró' (erősen fogékony) *in vitro* burgonynövényekben *Dickeya dadantii* fertőzést követően

A rezisztens klónt összehasonlítva az erősen fogékony fajttal a kezdeti fruktóztartalmat tekintve már nem mondható el az, ami a korábbiakban jellemző volt. Az erősen fogékony fajtában kisebb vagy közel azonos a fruktóz mennyisége (0,075 mg/g), mint a rezisztens klónban (0,095 mg/g) (50. ábra).

A fertőzés hatására tulajdonképpen ugyanaz a tendencia érvényesül, mint a glükóz esetében, tehát a fertőzés egy folyamatos fruktóz szint emelkedést indukál. A rezisztens klónban a kontrollhoz képest 24 óra alatt harmincszorosára nőtt meg a fruktóz mennyisége a fertőzött szövetekben, egész pontosan a szűrés környéki (SZ) szárrészekben, azaz 0,07 mg/g-ról 2,195 mg/g-ra változott. Az erősen fogékony fajtában viszont ez az emelkedés hatvanszoros volt, 0,015 mg/g-ról 0,895 mg/g-ra emelkedett meg a fruktóz mennyisége az inokuláció hatására (50. ábra).



50. ábra. Fruktóztartalom változása a 34/85 (rezisztens), a ‘Réka’ (mérsékelten fogékony) és a ‘Boró’ (erősen fogékony) *in vitro* burgonynövényekben *Dickeya dadantii* fertőzést követően

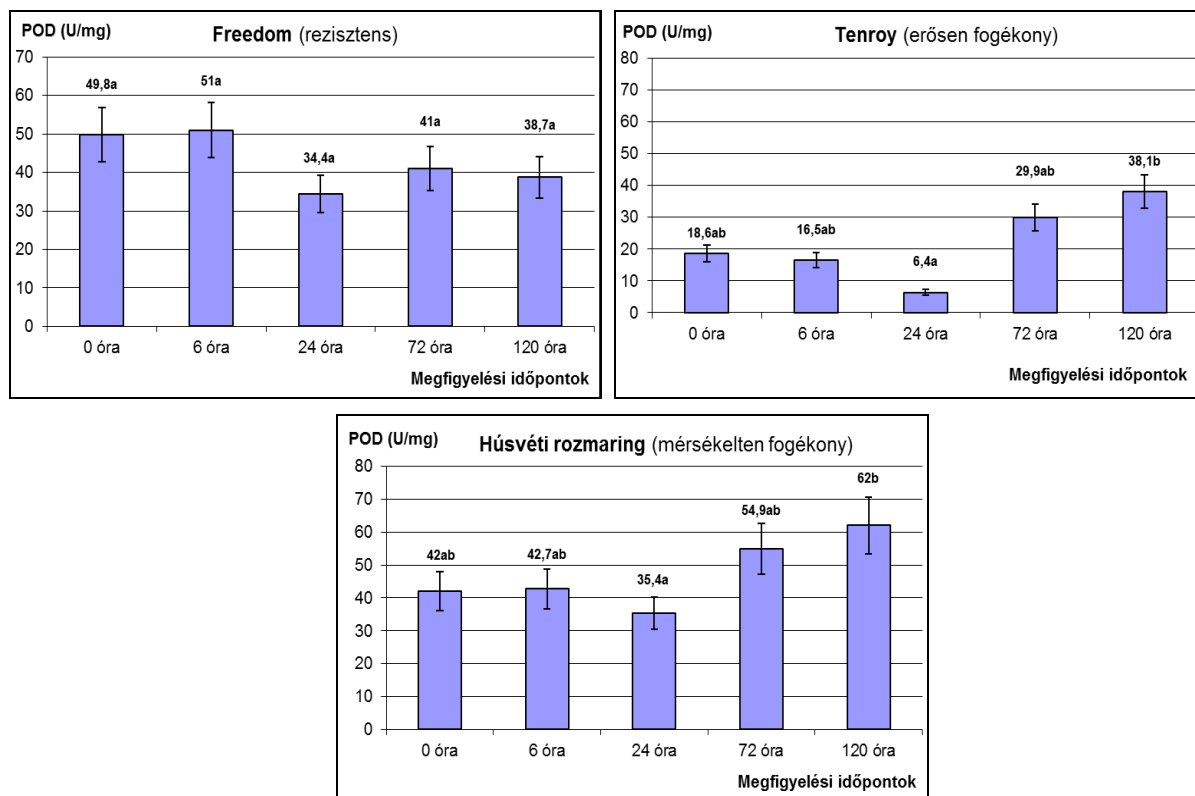
5.4.5. Peroxidáz enzimaktivitás változások *Erwinia amylovora* fertőzés következtében

A kiválasztott fajták: ‘Freedom’ (rezisztens), ‘Húsvéti rozmaring’ (mérsékelten fogékony) és ‘Tenroy’ (Royal Gala) (erősen fogékony) fajta.

Alma esetében is a fertőzést követő azonnali mintavételt (0 órá) vettük kontrollnak. A legmagasabb aktivitást a rezisztens ‘Freedom’ fajta mutatta és a fogékonyság növekedésével csökkent a fajták kiindulási aktivitása. A rezisztens fajtáé 49,8 U/mg, a mérsékelten fogékony fajtáé 42 U/mg, míg az erősen fogékonyé 18,6 U/mg volt (51. ábra).

A fertőzés hatására a kontrollhoz képest történt változás, mégpedig mindhárom fogékonyságú fajtában hasonló tendencia érvényesül. A változás a fertőzés után 24 órával következik be, ekkor egy csökkenés figyelhető meg az enzimaktivitásban, amit egy emelkedés követ. A rezisztens fajtában nem tartós változásról van szó, hiszen a fertőzés utáni 72. órára kiegyenlítődik az enzimaktivitás. A mérsékelten fogékony és az erősen fogékony fajtában folyamatos emelkedés figyelhető meg a 24. órák csökkenés után. Ez a növekedés a fertőzést követő 72. órára meg is haladja a kontroll értékét. Feltételezhetően a rezisztens fajtában a kiegyenlítődés szintén megtörténik, csak a fertőzést követő 120. óra után. Az erősen fogékony fajtában duplájára nőtt a POD aktivitás a kontrollhoz képest, 18,6 U/mg-ról 38,1 U/mg-ra nőtt. Ez a változás megegyezik az *Pcc*-nál tapasztaltakkal. A rezisztens fajtában végbemenő folyamatok szintén hasonlóak az *Pcc*-nál tapasztaltakkal. Ami az utolsó mintavételi időpontban mért eredményeket illeti, nem volt

nagy különbség a rezisztens (38,7 U/mg) és az erősen fogékony fajta (38,1 U/mg) enzimaktivitása között (51. ábra).



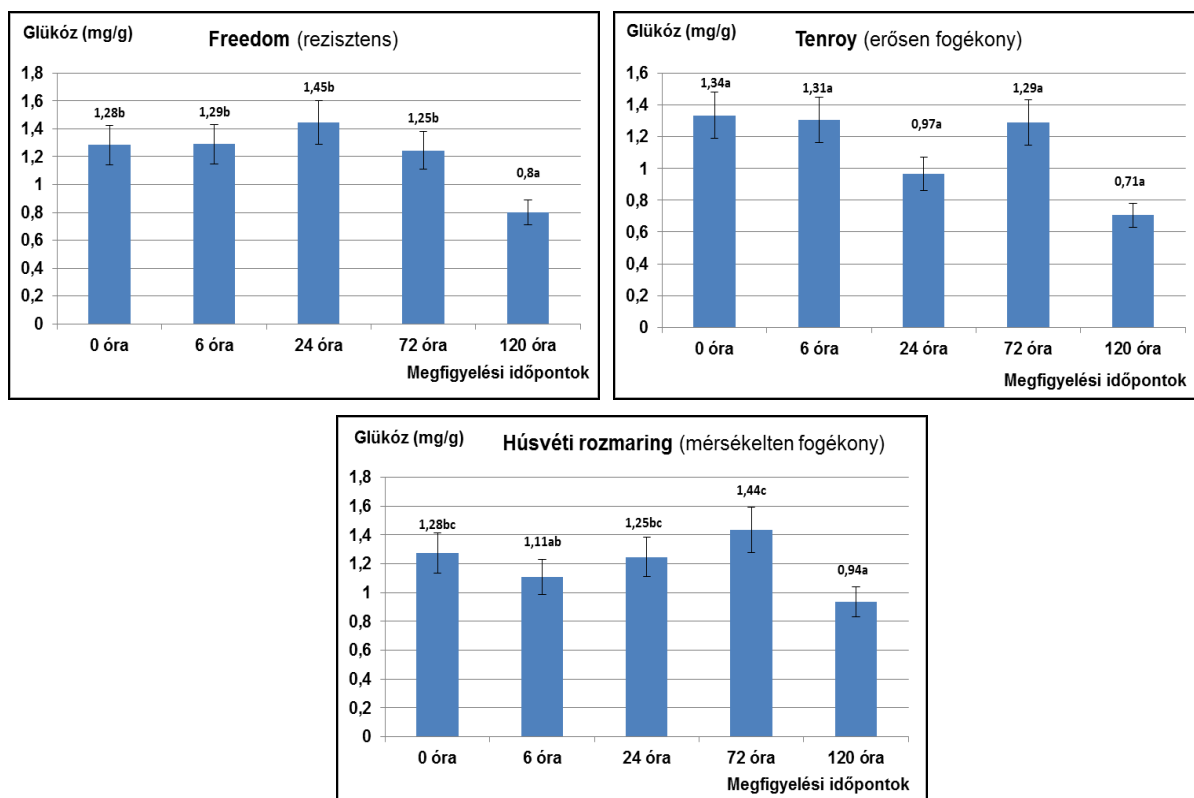
51. ábra. Peroxidáz enzimaktivitás változása a ‘Freedom’ (rezisztens), a ‘Húsvéti rozmaring’ (mértékelt fogékony) és a ‘Tenroy’ (erősen fogékony) *in vitro* almanövényekben *Erwinia amylovora* fertőzést követően

5.4.6. Szénhidráttartalom alakulása *Erwinia amylovora* fertőzés következtében

In vitro almanövényekben glükózt, fruktózt, szacharózt és D-szorbitolt mértünk. Hasonlóan az előzőekhez, ebben az esetben is a 0 órás eredményeket tekintettük kontrollnak. Az eltérő fogékonyságú fajták kontroll értékei között nagy különbségeket nem tapasztaltunk a glükóztartalomban. A rezisztens fajta glükóztartalma 1,285 mg/g volt, a mértékelt fogékony fajtáé 1,275 mg/g, míg az erősen fogékonyban 1,335 mg/g értéket mértünk (52. ábra).

A rezisztens fajtában a fertőzés hatására kismértékű cukornövekedés következett be, ami a maximumát a fertőzést követő 24 órával érte el és ezután folyamatosan csökkent. Az utolsó mintavételi időpontban (120 óra) a kontroll szintje alá süllyedt a glükóz értéke. Az erősen fogékony fajtában az első 24 órában cukorcsökkenést tapasztaltunk, majd a 24. órát követően emelkedett a glükóz mennyisége a fertőzött szövetekben, aztán újra csökkenni kezdett. A kontroll értékhez képest közel 50 %-kal csökkent a glükóz szintje a fertőzés után 120 órával. A mértékelt fogékony fajtában szintén egy kezdeti cukorcsökkenés figyelhető meg, ami a fertőzést követő 6. órában éri el a minimumát. Ezután egy emelkedés következik, ami a 72. óráig

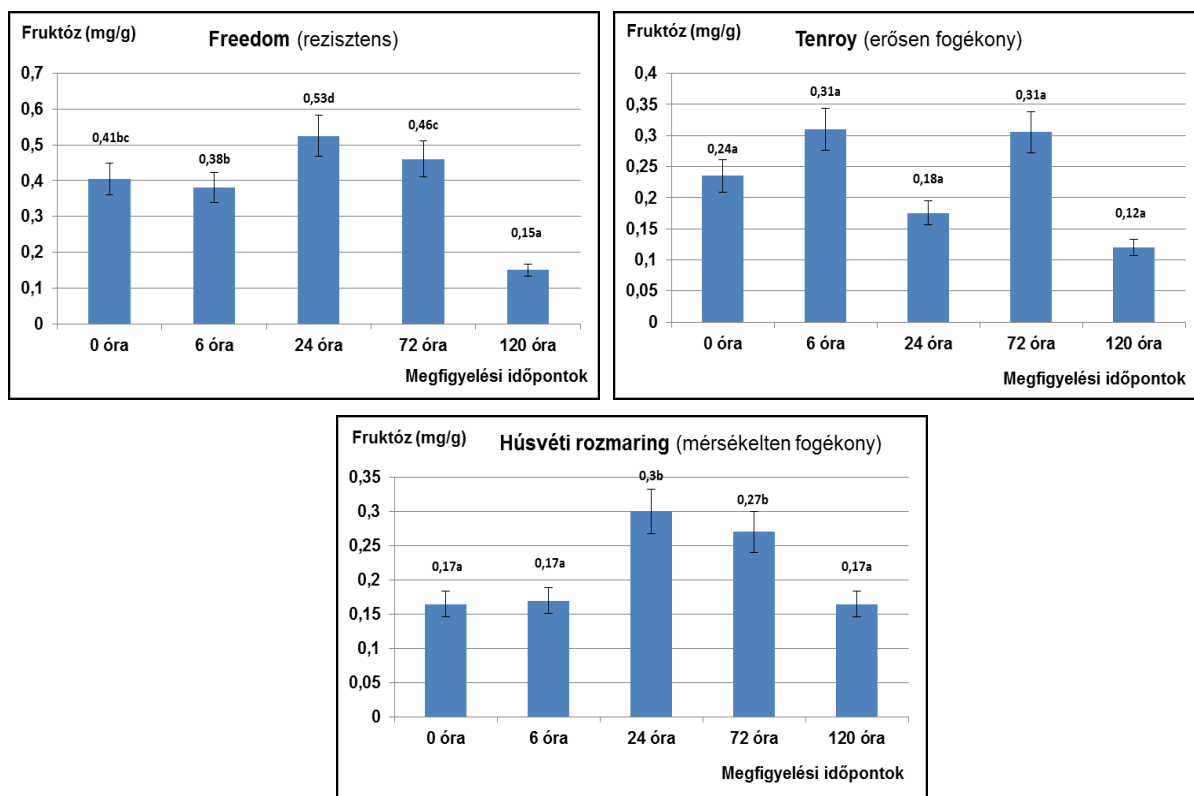
tart és aztán újra csökkenni kezd a glükóz mennyisége, mégpedig a kontroll értéke alá süllyed (52. ábra).



52. ábra. Glükóztartalom változása a ‘Freedom’ (rezisztens), a ‘Húsvéti rozsmaring’ (mérsékelt fogékony) és a ‘Tenroy’ (erősen fogékony) *in vitro* almanövényekben *Erwinia amylovora* fertőzést követően

A rezisztens fajtában mértük a legmagasabb fruktóztartalmat (0,405 mg/g), ami közel kétszerese volt a mérsékelt fogékony fajtában (0,165 mg/g) és az erősen fogékony fajtában (0,235 mg/g) mértékhez képest (53. ábra).

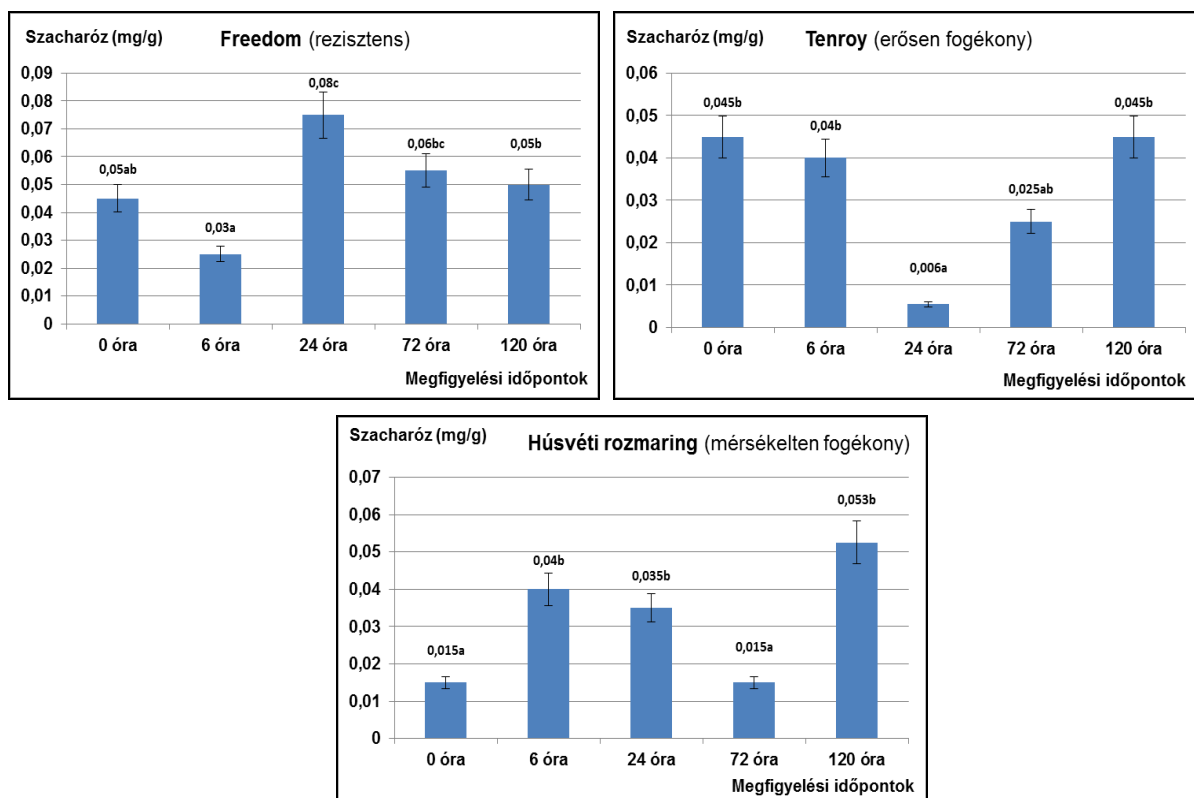
A rezisztens fajtában a fertőzés számottevő csökkenést nem indukál, a fertőzést követő 24 órában folyamatosan nő a fruktóz mennyisége, meghaladja a kiindulási kontroll szintet is, majd a 24. órás maximumot követően csökkenni kezd, a 120. órára a kontroll érték kevesebb, mint felére süllyed le a fertőzött szövetek fruktóz mennyisége. Hasonló tendenciát figyelhettünk meg a mérsékelt fogékony fajtában is. Az erősen fogékonyban viszont a fertőzés hatására cukoremelkedés történt, majd a fertőzés után 6 órával csökkenni kezd a fruktóz mennyisége, ami a minimumát a 24. órában éri el. Ezt követően ismét megemelkedik és a fertőzés után 120 órával újra csökken. A csökkenés mértéke teljesen hasonló a rezisztens fajtában tapasztaltakkal, ebben az esetben is kevesebb, mint a kontroll érték felére esik vissza a fruktóz mennyisége a kezdeti értékekhez képest, 0,235 mg/g-ról csökken le 0,1 mg/g-ra (53. ábra).



53. ábra. Fruktóztartalom változása a ‘Freedom’ (rezisztens), a ‘Húsvéti rozmaring’ (mérsékeltén fogékony) és a ‘Tenroy’ (erősen fogékony) *in vitro* almanövényekben *Erwinia amylovora* fertőzést követően

A kontroll szacharóz értékeket megfigyelve elmondható, hogy a rezisztens és az erősen fogékony fajtában azonos értéket (0,045 mg/g) kaptunk, ezzel szemben a mérsékeltén fogékony fajtában (0,015 mg/g) az előzőek harmada volt a kezdeti szacharóztartalom (54. ábra).

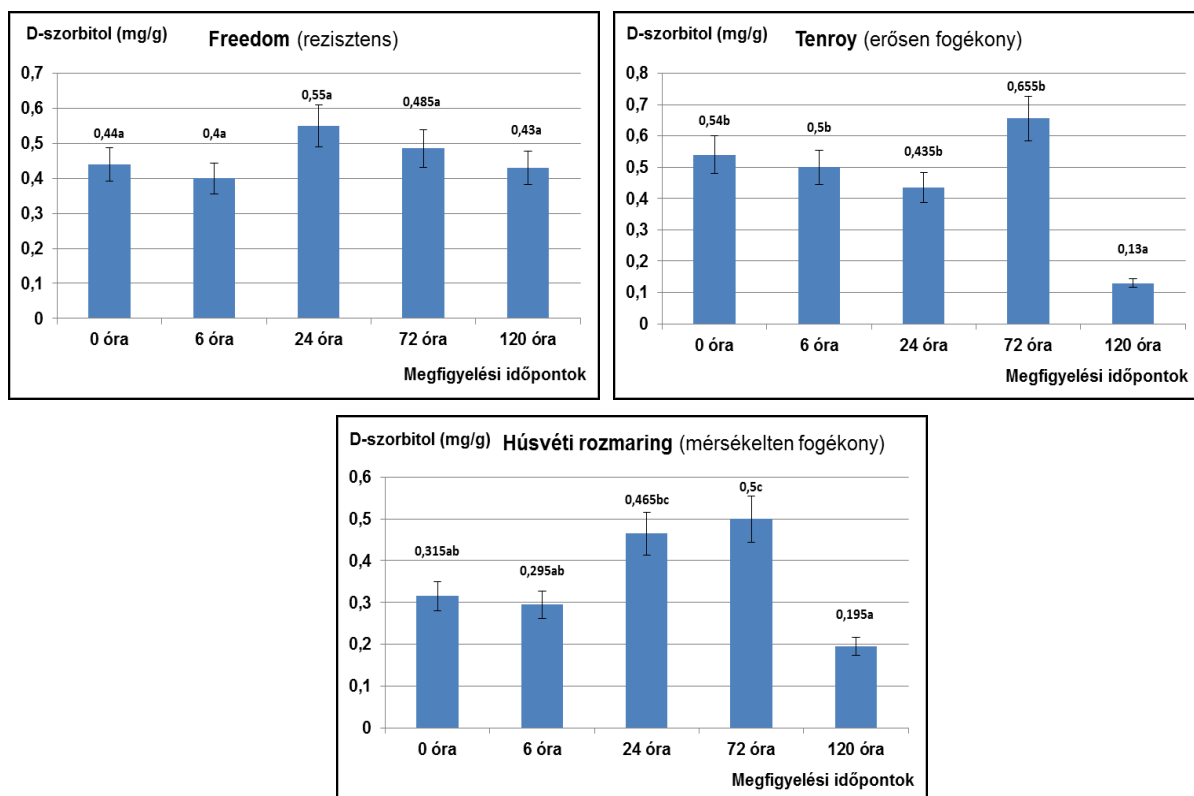
A fertőzés hatására a rezisztens fajtában majdnem a duplájára nő a szacharóz mennyisége az első 24 órában, egész pontosan 0,045 mg/g-ról 0,075 mg/g-ra változik. Ezt követően csökkenni kezd és a 120. órára kiegyenlítődik, visszaáll a kiindulási szacharóz szint (0,05 mg/g). Ezzel ellentétben az erősen fogékony fajtában a fertőzés utáni 24 órában folyamatos csökkenést tapasztaltunk, mely a minimumát a 24. órában érte el (0,0055 mg/g) és ezt követően folyamatosan nő és az előzőhöz hasonlóan a 120. órára szintén megtörténik a kiegyenlítődés (54. ábra).



54. ábra. Szacharóztartalom változása a ‘Freedom’ (rezisztens), a ‘Húsvéti rozsmaring’ (mérsékeltlen fogékony) és a ‘Tenroy’ (erősen fogékony) *in vitro* almanövényekben *Erwinia amylovora* fertőzést követően

A kontroll D-szorbitol értékeket összehasonlítva elmondható, hogy a legmagasabb értéket az erősen fogékony fajtában mértünk (0,54 mg/g), ennél alacsonyabb volt a rezisztens fajtában kapott érték (0,44 mg/g) és a legalacsonyabb a mérsékeltlen fogékony fajtában volt (0,315 mg/g) (55. ábra).

A fertőzés hatására a rezisztens fajtában cukoremelkedést tapasztaltunk, a legmagasabb értéket a fertőzés után 24 órával sikerült kimutatni (0,55 mg/g), majd ezt egy folyamatos csökkenés követte és a 120. órára teljesen kiegyenlítődika D-szorbitol értéke. A mérsékeltlen fogékony fajtában szintén egy maximumot figyeltünk meg a fertőzés után 24-72 órával, amit szintén egy csökkenés követ és az utolsó megfigyelési időpontban (120 óra) már a kontroll szintje alá süllyed a D-szorbitol mennyisége. Az erősen fogékony fajtában a fertőzés hatására egy cukorcsökkenés következik be, mely a 24. óráig tart, ez után megemelkedik a D-szorbitol szint a fertőzött szövetekben. A 72. órás maximumot (0,655 mg/g) követően egy jelentős csökkenés következik be, a 120. órára 0,13 mg/g-ra csökken a cukor mennyisége, tehát jelentősen a kontroll szintje alá süllyed (55. ábra).



55. ábra. D-szorbitol-tartalom változása a ‘Freedom’ (rezisztens), a ‘Húsvéti rozmaring’ (mérsékelten fogékony) és a ‘Tenroy’ (erősen fogékony) *in vitro* almanövényekben *Erwinia amylovora* fertőzést követően

5.5. Új tudományos eredmények

Az új tudományos eredményeket az alábbiak szerint foglalom össze:

1. Új fertőzési eljárást dolgoztunk ki a lágyrothadás betegséget okozó *Erwinia* fajokkal szembeni ellenállóság gyors és megbízható tesztelésére mikroszaporított burgonyanövények és mikrogumók bevonásával.
2. Megállapítottam, hogy a burgonyafajták ellenállóságának mértéke az *in vitro* hajtásokon jelentkező tünetekkel jellemezhető legmegbízhatóbban az általam vizsgált módszerek közül.
3. A hajtás és gumó összesített adatainak ismeretében a fajtákat és nemesítési klónokat különböző fogékonysági kategóriákba soroltam, fontos információkat szolgáltatva a hagyományos burgonyanemesítés számára.
4. Elsőként hasonlítottam össze lágyrothadás és hajtásszáradás betegségek során végbemenő növényi válaszreakciókat a peroxidáz stresszenzim és néhány fontosabb cukor változása alapján. Megállapítottam, hogy a gazdanövény azonos módon reagál a különböző betegségtípusokra.
5. Mikroszaporított növények bevonásával elsőként bizonyítottam a biokémiai markerek alkalmasságát a fajták stressztűrésének meghatározására. A vizsgált biokémiai paraméterek közül a peroxidáz enzimaktivitás jellemezte leginkább mind a burgonya lágyrothadásának, mind pedig az alma hajtásszáradásának kórfolyamatát. A szénhidrátok közül alma esetében a szacharózban mutatkoztak meg a legnagyobb különbségek a rezisztens és fogékony fajtákban, míg burgonya esetében mindkét baktériumfajnál a fruktóz változása volt a legjellemzőbb.
6. Az *in vitro* burgonya és almahajtások vizsgálati és értékelési módszerét kiegészítettem a fertőzött növényi szövetekben lévő baktériumok visszaizolálásával és telepszámlálásával.

6. MEGVITATÁS, KÖVETKEZTETÉSEK

Az *in vitro* módszereknek nemcsak a fajtafenntartásban, szaporítóanyag előállításban van jelentősége, hanem a növénynemesítésben is. A mikroszaporított tenyészeteket sikeresen használhatjuk különböző kórokozók, akár karantén kórokozók tesztelésére is, mivel steril körülmények között, biztonságosan folynak a mesterséges fertőzések és megfigyelések, a kísérleti anyag a vizsgálatok után megsemmisíthető, a kórokozó kiszabadulásának veszélye nélkül. Mikroszaporított növények egész évben rendelkezésre állnak; előállításuk kevésbé költséges, mint a kifejlett növényeké és a mesterséges fertőzések is standard körülmények között végezhetők, nem kell számolni az időjárás kiszámíthatatlanságával.

Dolgozatomban olyan gazdaságilag jelentős növénybetegségekkel foglalkoztam, mint a burgonya fekete szártőrothadása és a gumó nedves rothadása (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* és *Dickeya dadantii*), valamint az alma tűzelhalása (*Erwinia amylovora*).

Ezen baktériumfajok patogenitásának *in vitro* tesztelése során számos, a további kutatások során hasznosítható tapasztalatot szereztünk.

Az *in vitro* burgonyanövények fertőzésénél először is a tüneteket állapítottuk meg a fertőzést követő egy hét elteltével. Ennyi időre volt szükség, hogy a fajták, illetve nemesítési klónok közötti fogékonyságbeli különbségek jól láthatóvá váljanak és értékelni tudjuk őket. Mind az *Pcc*, mind a *Dd*-val történő fertőzések során hasonló tüneteket kaptunk, csak a tünetek erősségében voltak eltérések.

Összehasonlítva az *in vitro* burgonyanövények mindkét baktériumfajjal történő fertőzési kísérleteinek eredményeit, megállapíthatjuk, hogy az *Pcc* agresszívabb baktériumfaj, súlyosabb tüneteket idézett elő az *in vitro* növényeken, mint az *Dd*. A burgonya genotípusok nem azonosan reagáltak a különböző kórokozókra. Hasonló reakciót mutattak mindkét baktériumfajjal szemben a következő genotípusok: 77399/514 és a 'Cleopátra' mérsékelten rezisztens; 36/92 és a 'Desiree' mérsékelten fogékony; 'Boró' erősen fogékony.

Az *Pcc*-val szemben perspektivikusnak a 77365/103 klónt és a 'Rachel' fajtát tekinthetjük. A *Dd*-val szemben viszont a 34/85 klón tekinthető perspektivikusnak.

Sajnos a szakirodalomban nagyon kevés adat áll rendelkezésre, hogy a kereskedelmi burgonyafajták milyen fogékonysággal bírnak a *Pectobacterium* és *Dickeya* fajokkal szemben. A szakirodalom alapján (Tzeng *et al.*, 1990) fogékonynak tekinthető a 'Kondor', a 'Flamenco', közepesen fogékony a 'Ciklámen', 'Góliát' és 'Russat Burbank', kevésbé fogékony a 'Desiree', 'Sarolta' és 'Cleopátra' fajta. Vizsgálataink egy része nemesítési klónokra vonatkozott, mivel

feltételeztük, hogy az *in vitro* génbankunkban vannak olyan klónok, melyek leszármazottai között vad *Solanum* fajok is szerepelnek. A kísérletbe bevont nemesítési klónokról és a Nyíregyházán nemesített fajtákról ('Rachel', 'Boró' és 'Réka') ezek az első ilyen jellegű információk. Az a feltevésünk, miszerint a vad fajok hordozhatnak rezisztenciát, részben be is igazolódott, mivel a *Pcc*-val szemben rezisztensnek ítélt 77365/103, valamint a mérsékelten rezisztens 77399/514 felmenői között szerepel vad *Solanum* faj, mégpedig a *Solanum chacoense*.

A fertőzött növényi szövetekből történő visszaizolálással azért egészítettük ki a hajtásfertőzés módszerét, mert kíváncsiak voltunk arra, hogy a baktériumszámlálással alátudjuk-e támasztani a hajtásfertőzéskor kapott eredményeinket, azaz korrelációt mutat-e a tünetek súlyossága az emelkedett baktérium sejtszámmal.

A fertőzést követő harmadik nap végzett visszaizolálásakor a szűrés környéki mintákból tenyésztettük ki a legtöbb baktériumsejtet mindkét baktériumfajnál. A fajták közötti eltérések párhuzamba állíthatók a hajtásfertőzéskor kapott eredményekkel. Az *Pcc* visszaizolálásakor a többi fajtához képest magasabb baktérium sejtszámot kaptunk az erősen fogékony 98/91 esetében, ami teljesen megfelelt a hajtásfertőződés eredményének. Az *Dd* esetében pedig a 'Boró' és a 136/92 klónból vett mintákból izoláltuk vissza a legtöbb baktériumsejtet, míg a legkevesebbet a 34/85 klónból.

A fertőzést követő hetedik napos visszaizolálásnál a szűrés helyén továbbra is magas baktérium sejtszámokat kaptunk a másik két visszaizolálási helyhez viszonyítva, viszont a szűrés alatti mintákban is jelentősen megnőtt a sejtszám, ami arra enged következtetni, hogy a szárban lefelé terjed a fertőzés. Az eredményeinkből úgy tűnik, hogy az *Dd* szaporodása és terjedése lassabb a szárban, mint a *Pcc*-é. Ez lehet az oka annak is, hogy miért nem okozott az *Dd* olyan erősségű tüneteket az *in vitro* burgonyahajtásokon, mint a *Pcc*.

Egy másik módszer, amit kidolgoztunk a burgonyafajták fogékonyságának tesztelésére az az *in vitro* gumófertőzés módszere volt. Ugyanazon megfigyelési időpontokat alkalmaztuk, mint az *in vitro* hajtásfertőzés esetében.

A *Pcc*-val történt fertőzések során az utolsó megfigyelési időpontban (fertőzést követő hetedik nap) kapott eredmények alapján csoportosítottuk a klónokat. Ebben az esetben három fogékonysági kategóriát tudtunk meghatározni (rezisztens, mérsékelten fogékony és erősen fogékony). A 'Rachel' mindhárom megfigyelési időpontban ellenállónak bizonyult. A „kakukktójas” a 98/91 volt, mivel az első két megfigyelés során nagyon jól reagált a biotikus stresszre, de az utolsó megfigyelési időpontban a fertőzés elhatalmasodott a gumókon. A mikrogumók háromnegyede teljesen elrohadt a fertőzést követő egy hét után. Az így kapott végeredmény teljes összhangban volt az *in vitro* növényfertőzés eredményével.

Az *Dd*-val történt fertőzésekre adott válaszok alapján jobban elváltak a fajták egymástól, négy fogékonysági csoportot tudtunk kialakítani (rezisztens, mérsékelt rezisztens, mérsékelt fogékony és erősen fogékony).

A *Pcc*-val összehasonlítva az ott rezisztensnek ítélt 'Rachel' a *Dd*-val szemben mérsékelt fogékony volt, míg a 98/91 erős fogékonyságot mutatott a *Pcc*-val szemben, itt viszont szintén a közepes fogékonyságúak csoportjába soroltuk. Az *Dd*-val szemben rezisztens 77399/514 és a legfogékonyabb 'Boró' a *Pcc*-val szemben közepes fogékonysággal bírt.

Az *in vitro* hajtásfertőzéssel összehasonlítva elmondható, hogy a 'Boró' gumója és hajtása is erősen fogékonyak bizonyult az *Dd*-val szemben. A 136/92 gumója mérsékelt rezisztens, míg a hajtása erősen fogékony volt. A 'Cleopátra' gumója mérsékelt fogékony, míg a hajtás érzékenységet mérsékelt rezisztensnek ítéltük. A 'Desiree', a 98/91 és a 77365/103 hajtása és gumója is hasonlóan reagált a fertőzésre, mindkét esetben mérsékelt fogékonyak voltak.

Az eredményeink alapján láthatjuk, hogy egy növény különböző részei eltérő módon reagálhat a fertőzésekre. Ezért fordulhat elő, hogy egy fajta gumója fogékony, míg a hajtásrésze ellenállóbbnak bizonyul vagy fordítva egy adott fertőzésre.

A teljesség kedvéért teszteltünk egy a szakirodalomban már leírt módszert is, ez volt az üvegházi gumófertőzés módszere (Vlasov és Pereverzev, 1989). Eredményeink alapján ezzel a módszerrel tudtunk a legtöbb fogékonysági csoportot létrehozni mind a *Pcc*-val, mind a *Dd*-val végzett fertőzéseket követően (rezisztens, mérsékelt rezisztens, mérsékelt fogékony, fogékony és erősen fogékony).

Az üvegházi gumók fertőzésének módszerével vizsgálva a fajtákat megállapíthatjuk, hogy mindkét baktériummal szemben a legellenállóbb 77399/514, 136/92 és 'Boró' közül egyedül az 77399/514 volt az, mely az *in vitro* gumófertőzéskor is ellenállóbbnak bizonyult, bár *Pcc*-val szemben mérsékelt fogékony csoportba soroltuk, de ott csak egyetlen közepes fogékonyságú kategóriát tudtunk megállapítani. Ez volt az a klón, mely az *in vitro* növényfertőzés során is közepes rezisztenciát mutatott mindkét baktériumfajjal szemben.

Összehasonlítva a módszerek végeredményeit elmondhatjuk, hogy vannak közöttük eltérések és hasonlóságok. Attól függően, hogy mik a terveink a termesztett burgonyával, az dönti el, hogy melyik módszer eredményeit vesszük figyelembe. Mivel a betegség a száron jelenik meg először, ha ott ellenállóbb egy fajta, akkor valószínű, hogy a gumófertőzés nem is jön létre. Ezért a három módszer közül az *in vitro* hajtásfertőzés módszere volt az, amit leginkább alkalmasnak találtunk arra, hogy egy fajta fogékonyságát leteszteljük. Ezzel a módszerrel teljesen sterilen dolgozva, ki lehet zárni mindenféle másodlagosan rothadást előidéző baktériumot. *In vitro* növények esetében zsenge, zöld hajtásokról van szó, melyekben a baktériumok gyors szaporodásra képesek. A kémcsövekben lévő páratartalom, hőmérséklet szintén ideálisak a

fertőzés kialakulásához. Ezen „ideális” feltételek a másik két módszernél nem adóttak. Viszont, ha célunk az, hogy hosszabb távra szeretnénk raktározni a burgonyát, akkor a gumóellenállósága a fontosabb.

Az almafajták fogékonyságának/rezisztenciájának fokozatait a növények hajtásának, ill. virágának segítségével szokták meghatározni. Virágfertőzéseket nem végeztünk, kizárólag *in vitro* hajtások fertőzésével teszteltük a fajtákat.

Magyarországon mesterséges fertőzést szabadföldi körülmények között nem lehet végrehajtani, mivel karantén kórokozóról van szó. Továbbá a spontán fertőződésből származó adatok sem megbízhatóak a növényállomány egyenlőtlen fertőződése miatt. Ezért tartottuk szükségesnek az inokulációs kísérletek elvégzését *in vitro* körülmények között.

A fertőzési indexek alapján a következő fogékonysági csoportokat határoztuk meg: rezisztens, mérsékelten rezisztens, mérsékelten fogékony és erősen fogékony.

Az almafajták fogékonyságával foglalkozó vizsgálatok (Sobiczewski *et al.*, 1997; Fischer *et al.*, 2004; Tóth *et al.*, 2005) eredményei szerint az ‘Idared’ erősen fogékony a tűzelhalás kórokozójával szemben. A mi eredményeink szerint egy közepes fogékonyság bizonyítható.

A Wisconsin Egyetemen McManus és Heimann (1997) által végzett vizsgálataik szerint a ‘Freedom’ rezisztensnek, míg a ‘Tenroy’, ‘Idared’ és ‘Jonagold’ fajtákat erősen fogékonyak találták. Ezt az eredményt a mi vizsgálataink részben alátámasztják. Elterést az ‘Idared’ és ‘Jonagold’ fajtáknál tapasztaltunk, mely a mi vizsgálatainkban közepes fogékonyságot mutattak.

A ‘Heszlia’ egyike a Tóth Magdolna (2012) által nemesített, államilag elismert multirezisztens fajtának, mely a mi vizsgálatainkban a tűzelhalással szemben mérsékelten rezisztensnek mutatkozott.

A mikroszaporított és a kifejlett növények eltérő fogékonysága valószínűleg a hajtások eltérő szöveti szerkezetére vezethető vissza. Az *in vitro* növények hisztológiai jellemzői nem egyeznek meg a szabadföldön vagy üvegházban nevelt növényekével. Általában az *in vitro* növények levélszövevei 50%-kal vékonyabbak, az epidermiszen kevésbé fejlett a viaszréteg (Ganeva *et al.*, 2009). A sztómák az epidermiszből gyakran kiemelkednek, nyitottak és sűrűbben helyezkednek el. A levelek keresztmetszetét összehasonlítva az *in vivo* levelekben jól elkülöníthető az oszlopos és a szivacsos parenchima, míg az *in vitro* levelek oszlopos parenchimája általában egy sejtsoros és a szivacsos parenchima sokkal tömörebb, kevesebb sejtközzti járatot tartalmaz (Jámbor-Benczúr *et al.*, 2001). A szár szöveti felépítése szintén eltérő, amit Kiss *et al.* (1997) tanulmányoztak hortenzián. Megállapították, hogy kifejlett növényeknél a szállítóyalábok jól elkülöníthetőek, a központi henger jól fejlett. A mikroszaporított növényeknél a központi henger jóval fejletlenebb, a szállítószövetek aránya nagyobb a szár keresztmetszetében és a bélszövetek viszonylag fejletlenebbek, mint az *in vivo* növényekben.

Tóth *et al.* (2013c) szerint a rezisztencianemesítésben a szelekció költséghatékonyság szerint is a legelőnyösebb módja az lehet, ha előbb a virágok fogékonysága alapján végzünk szelekciót, s utána M.9. alanyú oltványok hajtásainak fertőzésével értékeljük a hibridek tűzelhalással szembeni ellenállóságát.

A különböző fajok *in vitro* hajtásaiban a fertőzés hatására létrejövő biokémiai változásokról szóló szakirodalom elég szórványos. Az előkísérletek alapján megállapítható, hogy a módszer alkalmas a biotikus stresszhatás nyomon követésére. Ahhoz, hogy egzakt eredményeket kapjunk, célszerű lenne az eddigi hasonló jellegű kísérletek (Honty, 2010; Szecső, 2004) alapján a min. 300 mg minta biztosítása.

A peroxidáz enzimaktivitás vizsgálatok során kiderült, hogy a rezisztens fajták kiindulási POD szintje magasabb, mint a fogékony fajtáké. A *Pcc* fertőzés hatására bekövetkező változásokról megállapítható, hogy a fertőzés utáni hatodik óráig csökken a POD aktivitás, majd emelkedni kezd. A rezisztens 77365/103 klónban POD szintje a kiindulási értékhez képest alig változik a fertőzést követő 24 óra múlva, míg az erősen fogékony 98/91 klónban duplájára nő a POD aktivitás. A fertőzés hatására bekövetkező változás nem tartós, kiegyenlítődik.

Dd fertőzés hatására a kontrollhoz képest, az eltérő fogékonyságú klónok eltérően reagálnak. Az erősen fogékony 'Boró' fajtában emelkedő tendenciát mutat a POD aktivitás, addig a rezisztens 34/85 klónban és a közepes fogékonyságú 'Réka' fajtában van egy csökkenő szakasz, de a fertőzést követő 24 órával kiegyenlítődik a változás. A kontrollhoz képest minden esetben emelkedik a POD aktivitás, az erősen fogékony fajtában nagyobb mértékű ez a változás, mint a rezisztens klónban. Ez hasonlóságot mutat az *Pcc*-nél tapasztaltakkal.

Ea fertőzés hatására a kontrollhoz képest szintén változás történik, amely a fertőzést követő 24. órára tehető. A rezisztens 'Freedom' fajtában mindez nem tartós, mert a fertőzés után 72 órával kiegyenlítődik. A mérsékelt fogékony 'Húsvéti rozmaring' és erősen fogékony 'Tenroy' fajtákban viszont egy tartós változást tapasztaltunk, a POD aktivitása folyamatosan nőtt a megfigyelés során. Ezek a változások hasonlóak az *Ea*-nál tapasztaltakkal.

Honty (2010) hasonló eredményeket kapott kifejlett növények (körte) vizsgálatánál. Vizsgálataiban az ellenálló körtefajta kontrolljában kétszerese volt a peroxidáz enzimaktivitás, mint a fogékony fajtában. A fertőzés hatására kb. 50%-kal nőtt a POD aktivitás a fogékony fajtában, míg az ellenálló fajtában először csökkent, majd később már nem változott.

Az *in vitro* hajtások szénhidrát frakcióinak elemzése alapján a jól detektálható cukrok közül burgonyánál a glükózt és a fruktózt tudtuk kimutatni, míg almánál glükózt, fruktózt, szacharózt és a D-szorbitolt is. Ezek közül burgonyánál mindkét baktériumfaj esetében a fruktóz változása volt a legjellemzőbb, ezzel a szénhidráttal lehet leginkább jellemezni a fogékony és rezisztens

gazdaválaszt. Alma esetében ez a szénhidrát a szacharóz volt, itt tudtunk a legnagyobb különbségeket megfigyelni az eltérő fogékonyságú fajták között.

A burgonya és alma mikroszaporított növényeinek biokémiai vizsgálata során tapasztalt azonosságokat és eltéréseket a következőképpen foglalnám össze:

- A kezdeti POD értékek hasonlóan alakultak mindkét növényfaj esetében. Legmagasabb POD aktivitás a rezisztens genotípusokban volt, legalacsonyabb az erősen fogékonyakban.
- Biotikus stressz hatására mindenhol tapasztaltunk változást; a kiindulási POD értékekhez képest egy csökkenés következik be, mely az alma mindhárom fogékonyságú fajtánál a fertőzést követő 24 óra után a legkevesebb. Burgonyánál ez az érték három és hat óra közé tehető.
- A POD értékekben tapasztalt csökkenést minden esetben egy emelkedés követi akár lágyrothadást, akár hajtásszáradást előidéző baktériumok okozta stresszről legyen is szó.
- A szénhidrátok közül a kiindulási glükóztartalmat megvizsgálva elmondható, hogy mind az alma, mind a burgonya esetén a legmagasabb értékeket az erősen fogékony genotípusokban tapasztaltunk.
- A fertőzések hatására az eltérő fogékonyságú burgonya genotípusokban a glükóz- és fruktóztartalom változása ugyanazt a tendenciát követi, a fertőzést követő hatodik órában van a minimuma ezeknek a szénhidrátoknak, majd ezt követően egy folyamatosan emelkedést tapasztalhatunk. Alma esetében viszont a rezisztens és erősen fogékony fajták nem azonos módon reagálnak a fertőzésre egyik vizsgált szénhidrát esetében sem.

Ezekből az eredményekből arra következtethetünk, hogy a növények védekezése a kórokozókkal szemben egy általános mechanizmus szerint történik. A gazdanövény azonos módon reagál a különböző baktériumok fertőzésére, azaz a kórfolyamatok nem függenek a betegség típusuktól. A biotikus stressz hatására bekövetkező biokémiai folyamatok azonosak mind az *in vitro*, mind a kifejlett növényekben.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A klimatikus viszonyok változásának köszönhetően számolnunk kell arra, hogy újabb és újabb stresszhatások érik kultúrnövényeinket, melyekhez alkalmazkodniuk kell. Az utóbbi időben a szélsőséges időjárási körülmények mellett egyre jelentősebb stresszfaktor a járványosan fellépő kórokozók (kártévők) előfordulása. Fontos feladat hárul a növénynemesítőkre, hogy olyan új növényfajtákat nemesítsenek, melyek képesek alkalmazkodni ehhez a változó környezethez megfelelő termésbiztonság elérése mellett.

Dolgozatomban a Nyírségi tájkörzet két kiemelkedő jelentőségű növényével, a burgonyával és az almával foglalkoztam. A burgonyánál a *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Syn. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) és a *Dickeya dadantii* (Syn. *Erwinia chrysanthemi*) okoz ún. lágyrothadást, míg az *Erwinia amylovora* az almánál hajtáselhalást okoz.

Mindhárom kórokozóval szembeni védekezés lehetőségei korlátozottak. Burgonya esetében a kórokozók a paraszemölcsökben vagy az edénynyaláb rendszerben helyezkednek el, ezért a növényvédőszeres védekezés nem megoldható. Alma esetében a leghatásosabb növényvédőszer - a sztereptomicin - használatának betiltásával a védekezési lehetőségek köre csökkent. Költség- és környezetkímélő lehetőség lenne mindkét növényfaj esetében a rezisztens fajták köztermesztésben való alkalmazása. A Debreceni Egyetem ATK Nyíregyházi Kutatóintézete évtizedek óta foglalkozik burgonyanemesítéssel. A nemesítői munkánk különböző vad *Solanum* fajok használatán alapul. Irodalmi adatok alapján feltételezhetjük, hogy alapanyagaink, illetve klónjaink között, a *Pectobacterium* és a *Dickeya* fajokkal szembeni rezisztenciát/toleranciát hordozók is szerepelhetnek. A nyíregyházi burgonyafajtákat és nemesítési klónokat eddig ilyen irányú vizsgálatnak még nem vetették alá. Az almafajták *Ea*-val szembeni ellenállóságáról több irodalmi adat áll rendelkezésünkre, viszont a mikroszaporított növények fogékonyságáról már lényegesen kevesebb információnk van.

A fentiek tükrében célul tűztük ki, hogy burgonyafajták/klónok és almafajták fogékonyságát/ellenállóságát leteszteljük mikroszaporított növényeken. Ezek a növények az év bármely időszakában előállíthatók. *In vitro* körülmények között évjárathatással nem kell számolni, a mesterséges fertőzések standard körülmények között hajthatók végre. Mivel az *Ea* karantén kórokozó, ezért szabadföldi kísérletek végrehajtása nem lehetséges, de az *in vitro* tenyészeteket tökéletesen alkalmasak zárlati kórokozók tesztelésére is, mivel steril körülmények között, biztonságosan folynak a fertőzések és a megfigyelések is.

Tizenhárom burgonya genotípus, valamint hét almafajta fogékonyságát vizsgáltuk a különböző baktériumfajokkal szemben. Mindhárom kórokozóról elmondható, hogy csak a friss,

zöld hajtásban képes szaporodni és terjedni. A cél megvalósítása érdekében burgonyánál kidolgoztunk két, új és gyors *in vitro* fertőzési eljárást: egy hajtás és egy gumófertőzési eljárást. Ezek eredményeit egy, a szakirodalomban már leírt üvegházi gumófertőzési módszer eredményeivel egészítettük ki.

Az *in vitro* hajtásfertőzés módszerénél először megállapítottuk a vizuális tüneteket. Megállapítottuk, hogy mindkét burgonyát károsító baktériumfaj hasonló tüneteket okozott. A fajták és klónok fogékonysága azonban eltérő volt. A *Pcc*-val szemben perspektivikusnak találtuk a 77365/103 klónt és a 'Rachel' fajtát, míg az *Dd*-val szemben a 34/85 klónt. Az *in vitro* gumófertőzés módszerénél az *Pcc*-val szemben rezisztensnek a 'Rachel' fajtát, míg az *Dd*-val szemben rezisztensnek a 77399/514 klónt tekintettük.

Az üvegházi gumófertőzés módszere (Vlasov és Pereverzev, 1989) szerint rezisztensnek adódott az *Pcc*-val szemben a 136/92, a 77399/514, 'Boró' és 'Cleopátra'. Az *Dd*-val szemben ellenállónak bizonyult a 77399/514. Megállapítottuk, hogy a három módszer közül az *in vitro* hajtásfertőzés módszere a legalkalmasabb arra, hogy egy fajta fogékonyságát teszteljük, mivel a kórokozó szántóföldön a talajközeli szárrészt támadja meg először és innen fertőződik meg a gumó is. Ha a szár nem beteg, akkor a gumó sem lesz az. Eredményeink fontos információkat szolgáltathatnak a burgonyanemesítők számára, mely segíthet a hagyományos nemesítési időt jelentősen lerövidíteni.

Hevesi *et al.*, (2000) által kidolgozott módszerrel teszteltük az *in vitro* almanövények fogékonyságát a tűzelhalás kórokozójával szemben. Vizsgálatainkban rezisztens volt a 'Red Fuji' és a 'Freedom'; mérsékelten rezisztens a 'Hesztia', mérsékelten fogékony az 'Idared', 'Húsvéti rozmaring' és a 'Jonagold', valamint erősen fogékony a 'Tenroy' (Royal Gala). A mikroszaporított és a kifejlett növények eltérő fogékonysága az eltérő szöveti szerkezetre vezethető vissza.

A fertőzési kísérletek eredményeit a fertőzött növényi szövetekből történő baktérium sejtszám meghatározásával egészítettük ki. A hajtásfertőzés eredményeit teljes mértékben alátámasztották a visszaizoláláskor kapott eredmények. Az adatokból azt a következtetést is levonhattuk, hogy a fertőzés a szárból lefelé terjed.

Kutatásaink során a részletes kórfolyamaton túl kíváncsiak voltunk a fertőzés hatására bekövetkező biokémiai változásokra is. A stressz hatására képződő reaktív oxigén gyököket a növény antioxidáns védelmi rendszere hatástalanítja. Mikroszaporított növényről kevés információ állt rendelkezésünkre, hogy ezen rendszer enzimátikus és nem enzimátikus részét képező vegyületei hogyan változnak a fertőzés hatására. Arra szerettünk volna választ kapni, hogy a két különböző baktériumos betegség (lággyrothadás, hajtáselhalás) folyamatát azonos, vagy eltérő biokémiai folyamatok kísérik-e. Vizsgáltuk a fogékony, a mérsékelten fogékony és a

rezisztens fajták *in vitro* hajtásaiban a peroxidáz enzimaktivitás és a szénhidrátfrakciók változásait a fertőzés hatására.

Megállapítottuk, hogy mind a burgonyánál, mind az almánál a peroxidáz enzimaktivitás változása jó markernek tekinthető a fogékony és rezisztens gazdaválasz nyomon követésére. A kiindulási POD aktivitás minden esetben magasabb volt a rezisztens fajtákban, mint a fogékonyakban. A stressz hatására a fogékony fajták érzékenyebben reagáltak, a megfigyelés során a kontrollhoz képest minden esetben megnőtt a fertőzött szövetek POD aktivitása. A rezisztens fajtákban egyfajta kiegyenlítődés volt tapasztalható, az utolsó megfigyelési időpontokban a kiindulási (kontroll) értékekhez közeli POD aktivitásokat mértünk.

A szénhidrátok közül burgonyánál a fruktóz változása jellemezte jól a kórfolyamatot, almánál pedig a szacharóz. *Pcc* fertőzés hatására a fruktóztartalom változása ugyanazt a tendenciát követte mind a rezisztens, mind a fogékony fajta esetében. A fertőzés hatására a fruktóztartalom először csökkenésnek indult, majd a fertőzést követő 24. órára kiegyenlítődött a változás. *Dd*-val történő fertőzés hatására viszont egy folyamatos fruktózemelkedést tapasztaltunk a rezisztens és a fogékony fajtában is. *Ea*-val végzett fertőzések során a szacharóztartalom változásában ellenkező tendencia érvényesült az eltérő fogékonyságú fajtákban. A rezisztens fajtában a szacharóztartalom a fertőzést követő 24. órában éri el a maximumát, de a fertőzést követő 120. órára a fruktózsint visszaáll a kiindulási értékre. A fogékony fajtában a fertőzést követő 24 órában a fruktóztartalom folyamatosan csökkent, majd emelkedő tendenciát mutat és a fertőzést követő 120. órára eléri a kiindulási értéket.

8. SUMMARY

It is expected that crops will suffer from newer and newer stress, and they have to adapt to the new conditions caused by the change of climate. Recently, occurrence of epidemic pathogens and pests become an increasingly important stress factor beside the extreme weather conditions. Development of new cultivars, which able to adapt to the changing environment and can be grown with proper crop safety, is an important task falls to the plant breeders.

Results obtained in our research work with potato and apple crops - both have a great importance in the Nyírség region - are presented in this dissertation.

In the case of potatoes infection by the *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Syn. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) and the *Dickeya dadantii* (Syn. *Erwinia chrysanthemi*) cause so-called soft-rot, while in the case of apples infection by the *Erwinia amylovora* result in shoot necrosis.

Protection options against these pathogens are limited. In the infected potatoes these bacteria are in the vascular system or lenticels, thus chemical protection is not effective method. Similarly, the chemical protection in apple plantation against to *Ea* is very difficult because the most effective agent (streptomycin) has been banned.

Development of resistant cultivars/varieties and utilization of them in agriculture would be a cost-effective and environment friendly solution. Our Institute (University of Debrecen Centre for Agricultural Sciences Research Institute in Nyíregyháza) has been engaged in potato breeding for decades. Our breeding work is based on the utilization of wild *Solanum* species, thus it can be supposed that our breeding material includes lines and clones, which are tolerant or resistant against to *Pectobacterium* and *Dickeya* species, however prior to our study our breeding clones and cultivars have not been tested for their tolerance.

More information available about sensitivity of apple cultivars to *Ea*, however, there is much less information about responsibility of *in vitro* apple shoots produced by microproagation. Differences found in the sensitivity of *in vivo* and *in vitro* plantlets (shoots) maybe due to the differences in their tissue structures.

The aim of our research work was to test the sensitivity/tolerance properties of micropropagated potato cultivars/clones and apple cultivars. *In vitro* plantlets can be produced in any season of the year, there is not any “crop-year-effect”, and infection can be performed under standard and controlled conditions. Since *Ea* is a quarantine bacterium, field infection experiments are not permitted, but *in vitro* cultures are suitable for test of quarantine pathogens, because experiments (infections and observations) are securely conducted under sterile and

controlled conditions. In our experiments sensitivity of thirteen potato breeding clones and cultivars and seven apple scions against to bacteria was tested. Each bacterium species tested can proliferate and spread only in fresh and green shoots.

In order to realize in our aims we have developed new and fast *in vitro* methods for infection of shoots and tubers, respectively. Addition to these methods a tuber-infection method, which were made on tubers grown in green-house, was also applied, which has previously been reported in literature (Vlasov and Pereverzev, 1989).

Symptoms were detected visually on infected *in vitro* shoots and we found that both bacteria species caused similar symptoms on potato. Sensitivity of cultivars and clones were different: 77365/103 clone and ‘Rachel’ cultivar showed an adequate resistance against to *Pcc*, while 34/85 clone proved to be resistant against to *Dd*, thus they can be considered as perspective genotypes.

The ‘Rachel’ cultivar was also proven to be resistant against to *Pcc* in experiments in which *in vitro* tubers were infected, but only 77399/514 clones showed resistance against to *Dd*.

In the experiments, in which green-house grown tubers were infected, genotypes showing resistance against to *Pcc* were the 136/92 and 77399/514 clones, and ‘Boró’ and ‘Cleopátra’ cultivars, while only 77399/514 clone was proven to be resistant against to *Dd*.

Infection of *in vitro* shoots was found to be the most suitable method to detect the sensitivity of genotypes, and to serve information for potato breeders, which can help the traditional breeding work by reduction of the period required for development of new cultivar.

We have also tested the sensitivity of *in vitro* apple shoots against to the fire blight applying method developed by Hevesi *et al.* (2000). In our study ‘Red Fuji’ and ‘Freedom’ scions were proven to be resistant.

The number of bacterial cells isolated from infected tissue was also determined. These results completely confirmed our previous results obtained from experiments with infected shoots. We found, that the infection spread downward in the stem.

Biochemical changes induced by infection were also studied. Reactive oxygen radicals induced by stress will be deactivated by the antioxidant defence system of plant. There is very little available information about response of micropropagated plantlets considering changes in these molecules included in the enzymatic and non-enzymatic part of this system when infection occurs.

We would have liked to clarify that the process of two different bacterial diseases (soft-rot and shoot-necrosis) are accompanied by the same or different biochemical processes. Therefore, activity of peroxidase enzyme and changes of carbohydrates induced by infection were also examined in *in vitro* shoots of sensitive, moderate sensitive and resistant cultivars. We found,

that the changes in POD activity enzyme could be suitable marker for follow-up in responses of sensitive and resistant hosts in the case of both crops (apple and potato). The initial POD activity was always at higher levels in the resistant genotypes compared to the sensitive ones. However, sensitive genotypes were more responsible: the POD activity increased in infected tissues in each case compared to the control. Some kind of equalization could be observed in the resistant genotypes: levels of POD activity observed at the last observation time were similar to the ones observed at initiation (control).

Among carbohydrates changes in fructose and saccharose levels characterised properly the disease process in potato and apple, respectively.

Changes in fructose content induced by *Pcc* infection showed the same tendency in both the resistant and the sensitive genotypes. Immediately after infection the fructose content decreased but after 24 hours its level was equalised. However, when infection was made by *Dd*, the fructose content increased steadily in both the resistant and sensitive genotypes.

In contrast, changes in saccharose content was different in the genotypes with different sensitivity when infection occurred by *Ea*. Accordingly, the saccharose content reached a maximum at 24 hours after infection, but at 120 hours after infection the saccharose content decreased down to the initial level in the resistant genotypes. In contrast, in the sensitive genotypes the saccharose content decreased steadily during the 24 hours period after infection but later it increased and reached the initial level at 120 hours after infection.

M1 IRODALOMJEGYZÉK

1. AFEK U., ORENSTEIN J. (2002): Disinfecting potato tubers using steam treatments. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 24: 36–39. p.
2. AL-ARABI K. F. (2002): Novel antagonistic bacteria as prospective agents for the biocontrol of some plant bacterial diseases. *Doktori értekezés*, Budapesti Corvinus Egyetem.
3. ALLAN A. C., FLUHR R. (1997): Two distinct sources of elicited reactive oxygen species in tobacco epidermal cells. *The Plant Cell*, 9: 1559–1572. p. DOI: [10.1105/tpc.9.9.1559](https://doi.org/10.1105/tpc.9.9.1559)
4. ALLEFS S. J. H. M., VAN DOOIJEWERT W., DE JONG E. R., PRUMMEL W., HOOGENDOORN C. (1995): The role of the seed tuber in determining partial resistance to potato blackleg caused by *Erwinia* spp. *European Journal of Plant Pathology*, 101: 189–199. p. DOI: [10.1007/BF01874765](https://doi.org/10.1007/BF01874765)
5. ANILKUMAR T. B., CHAKRAVARTI B. P. (1970): Factors affecting survival of *Erwinia carotovora*, causal organism of stalk rot of maize, in soil. *Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 5: 333–340. p.
6. APEL K., HIRT H. (2004): Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55: 373–399. p. DOI: [10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701](https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701)
7. ASADA K. (1992): Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiologia Plantarum*, 85: 235–241. p. DOI: [10.1111/j.1399-3054.tb.04728.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.tb.04728.x)
8. AUSTIN S., LOJKOWSKA E., EHLENFELDT M. K., KELMAN A., HELGESON J. P. (1988): Fertile interspecific somatic hybrids of *Solanum*: a novel source of resistance to *Erwinia* soft rot. *Phytopathology*, 78: 1216–1220. p.
9. BAHMANI R., KARAMI O., GHOLAMI M. (2009): Influence of Carbon Sources and Their Concentrations on Rooting and Hyperhydricity of Apple Rootstock MM.106. *World Applied Sciences Journal*, 6 (11): 1513–1517. p.
10. BAIN R. A., PÉROMBELON M. C. M. (1988): Methods of testing potato cultivars for resistance to soft rot of tubers caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atroseptica*. *Plant Pathology*, 37: 431–437. p.
11. BAKER C. J., ORLANDI E. W. (1995): Active oxygen in plant pathogenesis. *Annual Review of Phytopathology*, 33: 299–321. p. DOI: [10.1146/annurev.py.33.090195.001503](https://doi.org/10.1146/annurev.py.33.090195.001503)
12. BARNA B. (1995): Betegség- és abiotikus stressztoleráns növények előállítása a juvenilitás és az antioxidáns kapacitás fokozásával. *Növénytermelés*, 44: 561–567. p.
13. BARNA B., FODOR J., POGÁNY M., KIRÁLY Z. (2003): Role of reactive oxygen species and antioxidants in plant disease resistance. *Pest Management Science*, 59: 459–464. p. DOI: [10.1002/ps.706](https://doi.org/10.1002/ps.706)
14. BARTZ J. (1999): Suppression of bacterial soft rot in potato tubers by application of kasugamycin. *American Journal of Potato Research*, 76: 127–136. p. DOI: [10.1007/BF02853577](https://doi.org/10.1007/BF02853577)
15. BARTZ J., KELMAN A. (1985): Effect of air-drying on soft rot potential of potato tubers inoculated by immersion in suspensions of *Erwinia carotovora*. *Phytopathology*, 69: 128–131. p.
16. BARTZ J., KELMAN A. (1986): Reducing the potential for bacterial soft rot in potato tubers by chemical treatments and drying. *American Journal of Potato Research*, 63: 481–493. p.
17. BAUMGARTNER I. O., LEUMANN L. R., FREY M., JOOS M., VOEGELE R. T., KELLERHALS M. (2012): Breeding apples to withstand infection pressure by fire blight and other diseases. *15th International Conference on Organic Fruit-Growing: Proceedings to the Conference*, February 20– 22, 2012 at Hohenheim/Germany. Weinsberg: FOEKO, 14–21. p.
18. BDLIYA B., HARUNA H. (2007): Efficacy of solar heat in the control of bacterial soft rot of potato tubers caused by *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora*. *Journal of Plant Protection Research*, 47: 11–18. p.
19. BERGER F., ZELLER W. (1994): Resistenz von Apfel- und Birnensorten gegen Feuerbrand nach Blüteninfektion. *Obstbau*, 8: 403–404. p.
20. BESTWICK C. S., BROWN I. R., BENNETT M. H. R., MANSFIELD J. W. (1997): Localization of hydrogen peroxide accumulation during the hypersensitive reaction of lettuce cells to *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *The Plant Cell*, 9: 209–221. p.
21. BOLAR J. P., NORELLI J. L., ALDWINCKLE H. S., HANKE V. (1998): An efficient method for rooting and acclimation of micropropagated apple cultivars. *HortScience*, 33 (7): 1251–1252. p.
22. BONDE R., DE SOUZA P. (1954): Studies on the control of potato bacterial seed-piece decay and blackleg with antibiotics. *American Journal of Potato Research*, 31: 311–316. p.
23. BÖSZÖRMÉNYI E., ÉRSEK T., FODOR A., FÖLDES L. SZ., HEVESI M., HOGAN J. S., KATONA, Z., KLEIN M.G., KORMÁNY A., PEKÁR SZ., SZENTIRMAI A., SZTARICKAI F., TAYLOR R. A. J. (2009): Isolation and activity of *Xerorabdis* antimicrobial compounds against the plant pathogens *Erwinia amylovora* and *Phytophthora nicotianae*. *Journal of Applied Microbiology*, 107: 746–759. p. DOI: [10.1111/j.1365-2672.2009.04249.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04249.x)
24. BUBÁN T., BESZEDA E., DORGAI L., FÖLDES L., HUDÁK I., DOBRÁNSZKI J., HEVESI M. (2006): *Erwinia amylovora* infection of flowers and shoots in apple trees treated with Prohexadione-Ca. *Acta Horticulturae*, 704: 271–276. p.

25. BURKHOLDER W. H., MCFADDEN L.A., DIMOCK A. W. (1953): A bacterial blight of chrysanthemum. *Phytopathology* 43: 522-526. p.
26. BURRILL A. C. (1882): The bacteria: an account of their nature and effects, together with a systematic description of the species. *III. Indus. University Annual Reports*, 11: 93-157 p.
27. CADENAS E. (1989): Biochemistry of oxygen-toxicity. *Annual Review of Biochemistry*, 58: 79-110. p. DOI: [10.1146/annurev.bi.58.07019.000455](https://doi.org/10.1146/annurev.bi.58.07019.000455)
28. CARPUTO D., CARDI T., SPEGGIORIN M., ZOINA A., FRUSCIANTE L. (1997): Resistance to blackleg and tuber soft rot in sexual and somatic interspecific hybrids with different genetic background. *American Journal of Potato Research*, 74: 161-172. p. DOI: [10.1007/BF02851595](https://doi.org/10.1007/BF02851595)
29. CLADERA-OLIVERA F., CARON G. R., MOTTA A. S., SOUTO A. A., BRANDELLI A. (2006): Bacteriocin-like substance inhibits potato soft rot caused by *Pectobacterium carotovorum*. *Canadian Journal of Microbiology*, 52: 533-539. p. DOI: <http://dx.doi.org/10.1139/w05-159>
30. COMPANT S., DUFFY B., NOWAK J., CLEMENT C., BARKA E. A. (2005): Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 4951-4959. p. DOI: [10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005](https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005)
31. CRONIN D., MOENNE-LOCCOZ Y., FENTON A., DUNNE C., DOWLING D. N., O'GARA F. (1997): Ecological interaction of a biocontrol *Pseudomonas fluorescens* strain producing 2,4-diacetylphloroglucinol with the soft rot potato pathogen *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atroseptica*. *FEMS Microbiology Ecology*, 23: 95-106. p. DOI: [10.1111/j.1574-6941.1997.tb00394.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1997.tb00394.x)
32. CZAJKOWSKI R., DE BOER W. J., VELVIS H., VAN DER WOLF J. (2010): Systemic colonization of potato plants by a soilborne, green fluorescent protein-tagged strain of *Dickeya* sp. biovar 3. *Phytopathology*, 100: 134-142. p. DOI: [10.1094/PHYTO-100-2-0134](https://doi.org/10.1094/PHYTO-100-2-0134)
33. DASHWOOD E., BURNETT E., PÉROMBELON M. (1991): Effect of a continuous hot water treatment of potato tubers on seed-borne fungal pathogens. *Potato Research*, 34: 71-78. p. DOI: [10.1007/BF0235097](https://doi.org/10.1007/BF0235097)
34. DE HAAN E. G., DEKKER-NOOREN T. C. E. M., VAN DEN BOVENKAMP G. W., SPEKSNIJDER A. G. C. L., VAN DER ZOUWEN P. S., VAN DER WOLF J. M. (2008): *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* can cause potato blackleg in temperate climates. *European Journal of Plant Pathology*, 122: 561-569. p. DOI: [10.1007/s10658-008-9325-y](https://doi.org/10.1007/s10658-008-9325-y)
35. DIAZ-VIVANCOS P., RUBIO M., MESONERO V., PERIAGO P. M., ROS BARCELÓ A., MARTÍNEZ-GÓMEZ P., HERNÁNDEZ J. A. (2006): The apoplastic antioxidant system in *Prunus*: response to long-term plum pox virus infection. *Journal of Experimental Botany*, 57: 3813-3824. p. DOI: [10.1093/jxb/erl138](https://doi.org/10.1093/jxb/erl138)
36. DJEBALI N. MHADHBI H., JACQUET C., HUGUET T., AOUANI M. E. (2007): Involvement of hydrogen peroxide, peroxidase and superoxide dismutase in response of *Medicago truncatula* lines differing in susceptibility to *Phoma medicaginis* infection. *Journal of Phytopathology*, 155 (10): 633-640. p. DOI: [10.1111/j.1439-0434.2007.01290.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01290.x)
37. DOBRÁNSZKI J. (2005): Alma. 118-123. p. In: Jámborné B. E., Dobránszki J. (szerk.) *Kertészeti növények mikroszaporítása*. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 324 p.
38. DOBRÁNSZKI J., MAGYARNÉ T. K. (1997): A mikroszaporítás jelentősége, módszere és továbbfejlesztési lehetőségei burgonyánál. 7-16. p. In: DOBRÁNSZKI J. (szerk.): *A genetikai alapok megőrzése, fejlesztése hagyományos és biotechnológiai módszerekkel*. Nyíregyháza: Rím Könyvkiadó, p.
39. DOBRÁNSZKI J., MAGYARNÉ T. K. (2005): A burgonya mikroszaporítása. 156-163. p. In: JÁMBORNÉ B. E., DOBRÁNSZKI J. (szerk.): *Kertészeti növények mikroszaporítása*. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 324 p.
40. DOBRÁNSZKI J., TEIXEIRA DA SILVA J. A. (2010): Micropropagation of apple - a review. *Biotechnology Advances*, 28 (4): 462-488. p. DOI: [10.1016/j.biotechadv.2010.02.008](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.02.008)
41. DREO T., ZUPANCIC M., DEMSAR T., RAVNIKAR M. (2006): First outbreak of fire blight in Slovenia. *Acta Horticulturae*, 704: 37-41. p.
42. DUARTE V., DE BOER S. H., WARD L. J., DE OLIVEIRA A. M. (2004): Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. *Journal of Applied Microbiology*, 96: 535-545. p. DOI: [10.1111/j.1365-2672.2004.02173.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02173.x)
43. ECKERT J. W., OGAWA J. M. (1988): The chemical control of postharvest diseases: deciduous fruits, berries, vegetables and root / tuber crops. *Annual Review of Phytopathology*, 26: 433-469. p. DOI: [10.1146/annurev.py.26.090188.002245](https://doi.org/10.1146/annurev.py.26.090188.002245)
44. ELKINS R. B., INGELS C. A., LINDOW S.E. (2005): Control of fire blight by *Pseudomonas fluorescens* A506 introduced into unopened pear flowers. *Acta Horticulturae*, 671: 585-594. p.
45. FANG F. C. (2011): Antimicrobial actions of reactive oxygen species. *mBio* 2 (5): e00141-11. DOI: [10.1128/mBio.00141-11](https://doi.org/10.1128/mBio.00141-11).
46. FAO, 2012: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>.
47. FISCHER C. (2004): 161-164.p. In: SCHMIDT H., KELLERHALS M. (szerk.): *Progress in Temperate Fruit Breeding*. Netherlands: Kluwer Acad. Pub.
48. FISCHER C., FISCHER M. (1994): Hätettest für Pi- und Re-Sorten. *Obstbau*, 11: 537-539. p.

49. FISCHER C., RICHTER K. (1999): Ergebnisse der resistenzzüchtung gegenüber freuerband im Pillnitzer apfelzüchtungsprogramm. *Erwerbsobstbau*, 41: 56-60. p.
50. FISCHER C., SCHAEFER H. J. (1990): Vergleichende Untersuchungen der Resistenz von Apfelsorten gegenüber Feuerbrand im Gewächshaus und im Freiland. *Gartenbau*, 37 (9): 299-300. p.
51. GARDEN L., GOUY C., CHRISTEN R., SAMSON R. (2003): Elevation of three subspecies of *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp. nov., *Pectobacterium betavascularum* sp. nov. and *Pectobacterium wasabiae* sp. nov. *International Journal of Systemic and Evolutionary Microbiology*, 53: 381-391. p. DOI: [10.1099/ijs.0.02423-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.02423-0)
52. GANAVE T., STEFANOVA M., CELLÁROVÁ E., UZUNOVA K., KOLEVA D. (2009): Structural responses of the photosynthetic apparatus of *Orthosiphon stamineus* Benth. to temperature stress after cryopreservation. *Botanica Serbica*, 33 (2): 163-167. p.
53. GILL J. J. (2000): Bacteriophages of *Erwinia amylovora* and their potential use in biological control. *M.Sc. Thesis*. Department of Biological Sciences, Brock University, St. Catharines, Ontario, Canada.
54. GRAHAM D. C. (1976): Re-infection by *Erwinia carotovora* (Jones) Bergey et al. in potato stocks derived from stem cuttings. *EPPO Bulletin*, 6: 243-245. p.
55. GROSS G. G. (1978): Biosynthesis of lignin and related monomers. *Recent Advances in Phytochemistry*, 11: 141-184. p.
56. HALMÁGYI T. (1997): Van-e esélyünk a tűzelhalással szemben? *Agrofórum*, 8 (6): 15-16. p.
57. HARRIS R. (1979): Chemical control of bacterial soft-rot of wounded potato tubers. *Potato Research*, 22: 245-249. p. DOI: [10.1007/BF02357357](https://doi.org/10.1007/BF02357357)
58. HARRISON M. D., FRANC G. D., MADDOX D. A., MICHAUD J. E., MCCARTER-ZORNER N. J. (1987): Presence of *Erwinia carotovora* in surface water in North America. *Journal of Applied Microbiology*, 62: 565-570. p.
59. HARRISON M. D. In: Hooker W. J. (ed) (1990): *Compendium of Potato Disease*. APS PRESS, USA. 56. p.
60. HAUBEN L., MOORE E. R., VAUTERIN L. (1998): Phylogenetic position of phytopathogens within the *Enterobacteriaceae*. *Systemic and Applied Microbiology*, 21: 384-397. p. DOI: [10.1016/s0723-2020\(98\)80048-9](https://doi.org/10.1016/s0723-2020(98)80048-9)
61. HAUBEN L., VAN GIJSEGEM F., SWINGS J. (2005): Genus XXIV. *Pectobacterium*. 721-730. p. In: BRENNER D. J., KRIEG N. R., STALEY J. T. (szerk.): *Bergey's Manual of Systematic bacteriology*.
62. HEVESI M. (1996): Az *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. hazai megjelenése almán. *Növényvédelem*, 32 (5): 225-228. p.
63. HEVESI M., AL-ARABI, K., GÖNDÖR, M., PAPP, J., HONTY, K., KÁSA, K., TÓTH, M. 2006: Development of ecofriendly strategies for the control of fire blight in Hungary. *Acta Hort*, 704: 345-348. p.
64. HEVESI M., FARKAS Á., KÁSA K., OROSZ-KOVÁCS ZS. (2004): Carbohydrate utilization of *Erwinia amylovora* in vitro. *International Journal of Horticultural Science*, 10 (2): 31-34. p.
65. HEVESI M., PAPP J., JÁMBOR-BENCZUR 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. *International Journal of Horticultural Science*, 6 (4): 52-55. p.
66. HIDALGO O., ECHANDI E. (1982): Evaluation of potato clones for resistance to tuber and stem rot induced by *Erwinia chrysanthemi*. *American Journal of Potato Research*, 59: 585-592. p. DOI: [10.1007/BF02867598](https://doi.org/10.1007/BF02867598)
67. HIJMANS R. J., SPOONER D. M. (2001): Geographic distribution of wild potato species. *American Journal of Botany*, 88: 2101-2112. p.
68. HOLT-HARRIS J. E., TEAGUE O. (1916): A new culture medium for the isolation of *Bacillus typhosa* from stools. *International Journal of Infectious Diseases*, 18: 596. p.
69. HONTY K. (2010): Körtefajták tűzelhalással szembeni ellenállósága és a betegség folyamatának jellemzése néhány biokémiai paraméter vizsgálatával. *Doktori értekezés*, Budapesti Corvinus Egyetem.
70. HONTY K., HEVESI M., TÓTH M., STEFANIVITS-BÁNYAI É. (2005): Some biochemical changes in pear fruit tissue induced by *Erwinia amylovora*. *Acta Biologica Szegediensis*, 49 (1-2): 127-129. p.
71. HONTY K., SÁRDI É., STEFANIVITS-BÁNYAI É., TÓTH M. (2008): Frost induced changes in enzyme activities and carbohydrate content in the spurs of some pear cultivars during the dormancy. *International Journal of Horticultural Science*, 14 (1-2): 41-44. p.
72. HOOKER W. J. (ed) (1990): *Compendium of Potato Diseases*. APS PRESS, USA. 27. p.
73. HUDÁK I., DOBRÁNSZKI J., SÁRDI É., HEVESI M. (2010): Changes in carbohydrate content of potato calli during osmotic stress induced by mannitol. *Acta Biologica Hungarica* 61 (2): 234-236. p.
74. HUGUELET J. E. In: Hooker W. J. (ed) (1990): *Compendium of Potato Diseases*. APS PRESS, USA. 57. p.
75. JAMES D. J., (1983): Adventitious root formation 'in vitro' in apple rootstocks (*Malus pumila*). II. Uptake and distribution of indol-acetic acid during the auxinsensitive phase in M. 9 and M. 26. *Physiologia Plantarum*, 57: 154-158. p.
76. JAMES D. J., THURBON I. J. (1979): Rapid in vitro rooting of the apple rootstock M9. *Journal of Horticultural Science*, 54: 309-311. p.

77. JANG I. C., PARK S. Y., KIM K. Y., KWON J. G., KWAK S. S. (2004): Differential expression of 10 sweetpotato peroxidase genes in response to bacterial pathogen, *Pectobacterium chrysanthemi*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42 (5): 451-455. p.
78. JANSE J. D., RUISSSEN M. A. (1988): Characterization and classification of *Dickeya dadantii* strains from several hosts in The Netherlands. *Phytopathology*, 78: 800-808. p.
79. JÁMBOR-BENCZÚR E., KISSIMON J., FÁBIÁN M., MÉSZÁROS A., SINKÓ Z., GAZDAG GY., NAGY T. (2001): *In vitro* rooting and anatomical study of leaves and roots of *in vitro* and *ex vitro* plants of *Prunus x davidopersica* 'Piroska'. *International Journal of Horticultural Science*, 7 (1): 42-46. p.
80. JÁMBORNÉ B. E. (2005): A táptalaj. 49-50. p. In: JÁMBORNÉ B. E., DOBRÁNSZKI J. (szerk.) *Kertészeti növények mikroszaporítása*. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 324 p.
81. JOHNSON K. B. (2000): Fire blight of apple and pear. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-I-2000-0726-01
82. JOHNSON K. B., STOCKWELL V.O. (1998): Management of Fire Blight: A Case Study in Microbial Ecology. *Annual Review of Phytopathology*, 36: 227-248. p. DOI: 10.1146/annurev.phyto.36.1.227
83. JONES L. R. (1901): *Bacillus carotovorus* n. sp., die Ursache einer weichen Faulnis der Mohre. *Zentralbl. Bakteriol. Hyg. II. Abt.* 7: 12-21. p.
84. JONES J. B., JACKSON L. E., BALOGH B., OBRADOVIC A., IRIARTE F. B., MOMOL M. T. (2007): Bacteriophages for plant disease control. *Annual Review of Phytopathology*, 45: 245-262. p. DOI: [10.1146/annurev.phyto.45.062806.094411](https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.45.062806.094411)
85. KAMYSZ W., KROLICKA A., BOGUĆKA K., OSSOWSKI T., LUKASIAK J., LOJKOWSKA E. (2005): Antibacterial activity of synthetic peptides against plant pathogenic *Pectobacterium* species. *Journal of Phytopathology*, 153: 313-317. p.
86. KARHU S. T. (1995): The quality of applied carbohydrates affects the axillary branching of apple microshoots. *Bull. Rech. Agron. Gembloux.*, 30 (1-2): 21-27. p.
87. KÁSA K., G. TÓTH M., PAPP J., GÖNDÖR M., HEVESI M. (2003): Történelmi almafajták, külföldi árufajták és új hibridek fogékonysága *Erwinia amylovora* baktériummal szemben. *Növényvédelem*, 39 (4): 179-184. p.
88. KASTELEIN P., SCHEPEL E., MULDER A., TURKENSTEEN L., VAN VUURDE J. (1999): Preliminary selection of antagonists of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (Van Hall) Dye for application during green crop lifting of seed potato tubers. *Potato Research*, 42: 161-171. p. DOI: [10.1007/BF02358406](https://doi.org/10.1007/BF02358406)
89. KISS I., FEHÉT T., JÁMBOR-BENCZÚR E. (1997): Comparative anatomy of stems of *Hydrangea macrophylla* cv. Messalina *in vitro* and *in vivo*. *International Journal of Horticultural Science* 29 (1-2): 74-78. p.
90. KLEMENT Z. (1963): Rapid detection of the pathogenicity of phytopathogenic *Pseudomonas*. *Nature*. 199-300. p.
91. KOLOZSVÁRI NAGY J., KIRÁLY L., SCHWARCZINGER I. (2012): Phage therapy for plant disease control with a focus on fire blight. *Central European Journal of Biology* 7(1): 1-12.p. DOI: [10.2478/s11535-011-0093-x](https://doi.org/10.2478/s11535-011-0093-x)
92. KORBAN S. S., CHEN H. (1992): Apple. 203-227. p. In: HAMMERSCHLAG F. A., LITZ R. E. (szerk.): *Biotechnology of perennial fruit crops*. Wallingford: C. A. B. International.
93. KSH, 2012: www.ksh.hu/docs/hun/xstadat_eves/i_omn025.html
94. KSH, 2013: www.ksh.hu/docs/hun/xstadat_eves/i_omn017b.html
95. LAFERRIERE L. T., HELGESON J. P., ALLEN C. (1999): Fertile *Solanum tuberosum* + *S. commersonii* somatic hybrids as sources of resistance to bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 98: 1272-1278. p. DOI: [10.1007/s001220051193](https://doi.org/10.1007/s001220051193)
96. LARCHER W. (1987): Stress bei Pflanzen. *Naturwissenschaften*, 74: 158-167. p.
97. LARUE P., GAULLIARD J. M. (1993): Phosetyl-Al, a new weapon against fire blight in apple and pear orchards. *Acta Hort.* 338: 297-304. p.
98. LAURILA J., AHOLA V., LEHTINEN A. (2008): Characterization of *Dickeya* strains isolated from potato and river water samples in Finland. *European Journal of Plant Pathology*, 122: 213-225. p.
99. LAURILA J., HANNUKALA A., NYKYRI J. (2010): Symptoms and yield reduction caused by *Dickeya* spp. strains isolated from potato and river water in Finland. *European Journal of Plant Pathology*, 126: 249-262. p.
100. LAZAR I. (1972): Serological relationship between „*amylovora*”, „*carotovora*” and „*herbicola*” groups of the genus *Erwinia*. In: Maas Geesteranus H. P. (szerk.): *Proceedings of the 3rd international Conference of Plant Pathogenic Bacteria*, Wageningen. Pudoc, Wageningen, pp. 131-142. p.
101. LE LEZEC M., PAULIN J. P. (1984): Shoot susceptibility to fire blight of some apple cultivars. *Acta Horticulturae*, 151: 277-281. p.
102. LE LEZEC M., PAULIN J. P., LECOMTE P. (1987): Shoot and blossom susceptibility to fire blight of apple cultivars. *Acta Horticulturae*, 217: 311-314. p.
103. LIM W. H. (1975): The survival of *Erwinia chrysanthemi* in peat and mineral soil. *MARDI Research Bulletin*, 3: 20-23. p.

104. LINDOW S. E., MCGOURTY G., ELKINS R. (1996): Interactions of antibiotics with *Pseudomonas fluorescens* strain A506 in the control of fire blight and frost injury to pear. *Phytopathology*, 86 (8): 841-848. p.
105. ŁOJKOWSKA E., KELMAN A. (1994): Comparison of the effectiveness of different methods of screening for bacterial soft rot resistance of potato tubers. *American Journal of Potato Research*, 71: 99–113. p.
106. LOPER J. E., HENKELS M. D. (1999): Utilization of heterologous siderophores enhances levels of iron available to *Pseudomonas putida* in the rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 5357–5363. p.
107. LUBAINA A. S., MURUGAN K. (2012): Biochemical characterization of oxidative burst during interaction between sesame (*Sesamum indicum* L.) in response to *Alternaria sesami*. *International Journal of Advanced Biological Research*, 2 (1): 2012: 86-91. p.
108. MACKAY J. M., SHIPTON P. J. (1983): Heat treatment of seed tubers for control of potato blackleg (*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*) and other diseases. *Plant Pathology*, 32: 385–393. p.
109. MAGYARNÉ T. K., DOBRÁNSZKI J. (1997): A mikroszaporításra alapozott vetőburgonya termesztés. 30-35. p. In: DOBRÁNSZKI J. (szerk.): *A genetikai alapok megőrzése, fejlesztése hagyományos és biotechnológiai módszerekkel*. Nyíregyháza: Rím Könyvkiadó, p.
110. MANDAL S., MITRA A., MALLICK N. (2008): Biochemical characterization of oxidative burst during interaction between *Solanum lycopersicum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Physiol. Molecular Plant Pathology*, 72: 56–61. p.
111. MC CARTER-ZORNER N. J., FRANC G., HARRISON M. (1984): Soft rot *Erwinia* bacteria in surface and underground waters in southern Scotland and in Colorado, United States. *Journal of Applied Microbiology*, 57: 95–105. p.
112. MC MANNUS P. S., HEIMANN M. F. (1997): Apple, Pear and Related Trees Disorders: Fire blight. Wisconsin county Extension Office. <http://polk.uwex.edu>
113. MILLS A. A. S., PLATT H. W. B., HURTA R. A. R. (2006): Sensitivity of *Erwinia* spp. to salt compounds in vitro and their effect on the development of soft rot in potato tubers in storage. *Postharvest Biology and Technology*, 41: 208–214. p. DOI: [10.1016/j.postharvbio.2006.03.015](https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.03.015)
114. MILCEVICOVÁ R. (2009): Different aspects of plant responses to fire blight in apple. *Doktori értekezés*, Universität für Bodenkultur, Bécs. 33-57 p.
115. MITTLER R. (2002): Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *TRENDS in Plant Science*, 7: 405-410. p.
116. MOHAN S. K., THOMSON S. V. (1996): An outbreak of fire blight in plums. *Acta Horticulturae*, 411: 73-76 p.
117. MOLINA J., HARRISON M. (1977): The role of *Erwinia carotovora* in the epidemiology of potato blackleg. I. Relationship of *Erwinia carotovora* var. *carotovora* and *E. carotovora* var. *atroseptica* to potato blackleg in Colorado. *American Journal of Potato Research*, 54: 587–591. p.
118. MOWRY J. B. (1964): Trans. III. *State Horticultural Society*, 97: 134-144. p.
119. MURARIU A., GRĂDINARIU C., STRATU A. (2008): The ecophysiological reaction of some varieties of apple tree, pear tree and quince tree to the pathogenic agents attack. *Analele științifice ale Universității, "Al. I. Cuza" Iași*, Tomul LIV, fasc. 1, s. II a. Biologie vegetală, 40-45 p.
120. MURASHIGE T., SKOOG F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plantarum* 15, 473-497 p.
121. NÉMETH J. (1997): Az almatermésűek baktériumos hajtásszáradása és elhalása (tűzelhalás). Kórokozó: *Erwinia amylovora*. Alapvető ismeretek a betegségről és az ellene való védekezés lehetőségéről: *Szakmai információs anyag*. Budapest: Agroinform Kiadó és Nyomda Kft. 32 p.
122. NÉMETH J. (1998): Occurrence and spread of fire blight (*Erwinia amylovora*) in Hungary (1996-1998). Management of the disease. ISHS: Proceedings of the Eight International Workshop on Fire Blight, Kusadasy, Turkey, 15-15 October. *Acta Horticulturae*, 489: 177-185. p.
123. NÉMETH J. (1999): Occurence and spread of fire blight (*Erwinia amylovora*) in Hungary (1996-1998), management of the disease. *Acta Horticulturae* 489: 177-185 p.
124. NÉMETH J. (2013): A burgonya baktériumos betegségei és az ellenük való védekezés. *Agrofórum*, 22-24. p.
125. NOCTOR G., FOYER C. H. (1998): Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49: 249–279. p. DOI: [10.1146/annurev.arplant.49.1.249](https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.49.1.249)
126. OBERHOFER H. (1993). Neue Impulse für schorffresistente Apfelsorten. *Obstbau-Weinbau*, 7-8: 217-219. p.
127. ÖZAKTAN H., BORA T. (2006): Studies on biological control of fire blight with some antagonistic bacteria. *Acta Horticulturae*, 704: 337-339. p.
128. PANDHAIR V., SEKHON B. S. (2006): Reactive oxygen species and antioxidants in plants: An overview. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 15 (2):71-78. p. DOI: [10.1007/BF03321907](https://doi.org/10.1007/BF03321907)

129. PÁLFI K., VENDREI ZS., CSETE S., SIMON Z., SÓTONYI J., LŐRINCZNÉ IZSÁKI G. (2000): Az almatermésűek tüzelhalás betegsége (*Erwinia amylovora*) Magyarországon, 2000-ben. *Integrált termesztés a kertészeti és szántóföldi kultúrákban*, XXI: 12-17. p.
130. PÉROMBELON M. C. M., SALMOND G. P. C. (1995): Bacterial soft rots. 1–20. p. In: SINGH U. S., SINGH R. P., KOHMOTO K. (szerk.): *Pathogenesis and Host Specificity in Plant Diseases*, Vol. 1. Prokaryotes. Oxford, UK: Pergamon.
131. PÉROMBELON M. C. M. (1974): The role of the seed tuber in the contamination by *Erwinia carotovora* of potato crops in Scotland. *Potato Research*, 17: 187–199. p.
132. PÉROMBELON M. C. M. (1992): Potato blackleg: epidemiology, hostpathogen interaction and control. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 98: 135–146. p. DOI: 10.1007/BF01974480
133. PÉROMBELON M. C. M., HYMAN L. J. (1988): Effect of latent infection by *Erwinia* on yield. *Scottish Crop Research Institute Annual Report*. Dundee, UK. p.
134. PÉROMBELON M. C. M., KELMAN A. (1980): Ecology of the soft rot erwinias. *Annual Review of Phytopathology*, 18: 361–387. p. DOI: 10.1146/annurev.py.18.090180.002045
135. PÉROMBELON M. C. M., BURNETT E. M., MELVIN J. S., BLACK S. (1989): Preliminary studies on the control of potato blackleg by a hot water treatment of seed tubers. 557–566. p. In: TJAMOS E. C., BECKMAN C. H. (szerk.): *Vascular Wilt Diseases of Plants: Basic Studies and Control*. New York, USA: Springer-Verlag: NATO Advanced Science Institutes Series.
136. PÉROMBELON M. C. M. (2002): Potato diseases caused by soft rot erwinias: an overview of pathogenesis. *Plant Pathology*, 51: 1–12. p. DOI: 10.1046/j.0032-0862.2001.shorttitle.doc.x
137. PITMAN A., HARROW S., VISNOVSKY S. (2010): Genetic characterisation of *Pectobacterium wasabiae* causing soft rot disease of potato in New Zealand. *European Journal of Plant Pathology*, 126: 423–435. p.
138. RANGANNA B., KUSHALAPPA A. C., RAGHAVAN G. S. V. (1997): Ultraviolet irradiance to control dry rot and soft rot of potato in storage. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 19 (1): 30–35. p.
139. RANGARAJAN M., CHAKRAVARTI B. P. (1970): Studies on the survival of corn stalk rot bacteria. *Plant and Soil*, 33: 140–144. p. DOI: [10.1007/BF01378206](https://doi.org/10.1007/BF01378206)
140. RAVENSDALE M., BLOM T. J., GRACIA-GARZA J. A., SVIRCEV A. M., SMITH R. J. (2007): Bacteriophages and the control of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 29: 121–130. p.
141. RICHTER K. (1999): Der Feuerbrand des Kernobstes (*Erwinia amylovora*) und Möglichkeiten seiner Bekämpfung. *Erwerbsobstbau*, 41: 202-212 p.
142. ROBINSON K., FOSTER G. (1987): Control of potato blackleg by tuber pasteurisation: the determination of time-temperature combinations for the inactivation of pectolytic erwinia. *Potato Research*, 30: 121–125. p. DOI: [10.1007/BF02357691](https://doi.org/10.1007/BF02357691)
143. ROEMMELT S., TREUTTER D., SPEAKMAN J. B., RADEMACHER W. (1998): Effects of Prohexadine-Ca on the flavonoid metabolism of apple with respect to plant resistance against fire blight. *Acta Horticulturea*, 489: 359-363. p.
144. ROITSCH T. (1999): Source-sink regulation by sugar and stress. *Current Opinion of Plant Biology*, 2: 198-206. p. DOI: [10.1016/s1369-5266\(99\)80036-3](https://doi.org/10.1016/s1369-5266(99)80036-3)
145. ROSS H. (1986): Potato breeding problems and perspectives. Berlin, Germany: Paul Parey Scientific Publishers, *Advances in Plant Breeding* No. 13. p.
146. ROUSSELLE-BOURGEOIS F., PRIOU S. (1995): Screening tuber-bearing *Solanum* spp. for resistance to soft rot caused by *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* (van Hall) Dye. *Potato Research*, 38: 111–118. p. DOI: [10.1007/BF02358077](https://doi.org/10.1007/BF02358077)
147. ROWE R. C. (ed) (1993): *Potato Health Management*, APS PRESS, USA. 86. p.
148. RUDOLPH K., STAHMANN M. A. (1964): Interaction of peroxidases and catalases between *Phaseolus vulgaris* and *Pseudomonas phaseolicola*. *Nature*, 204: 474-475. p.
149. SALIN M. L. (1987): Toxic oxygen species and protective systems of the chloroplast. *Physiologia Plantarum*, 72: 681-689. p.
150. SAMSON R., LEGENDRE J. B., CHRISTEN R., FISCHER-LE SAUX M., ACHOUAK W., GARDAN L. (2005): Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) Brenner et al. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zeae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55: 1415–27. p. DOI: [10.1099/ijs.0.02791-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.02791-0)
151. 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. p.
152. SÁRDI É., VELICH I., HEVESI M., KLEMENT Z. (1999): Ontogenesis – and biotic stress – dependent variability of carbohydrate content in snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) *Zeitschrift für Naturforschung C-A Journal of Biosciences*, 54 (9-10): 782-787. p.

153. SÁRDI É., STEFANOVITS-BÁNYAI É. (2006): Relationship between peroxidase activity and the amount of fully-N-methylated compounds in bean plants infected by *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 28 (2): 523-528. p.
154. SCANDALIOS J. G. (1990): Response of plant antioxidant defense genes to environmental stress. *Advances in Genetics*, 28: 1–41. p.
155. SCHWARZINGER I., TÓTH M., HEVESI M. (2011): Control of Fire Blight by Bacteriophages on Apple Flowers. *Acta Horticulturae*, 896: 457-462. p.
156. SELYE J. (1975): Bonckés alatt a kutatás. Kriterion Könyvkiadó. Bukarest
157. SHANNON L., KAY E., LEW J. (1966): Peroxidase isozymes from *Horseradish* roots. Isolation and physical properties. *J. Biol. Chem.* 241 (9): 2166-2172. p.
158. SHARGA B. M., LYON G. D. (1998): *Bacillus subtilis* BS 107 as an antagonist of potato blackleg and soft rot bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 44: 777–83. p. DOI: [10.1139/w98-064](https://doi.org/10.1139/w98-064)
159. SHIRSAT S., THOMAS P., NAIR P. (1991): Evaluation of treatments with hot water, chemicals and ventilated containers to reduce microbial spoilage in irradiated potatoes. *Potato Research*, 34: 227–231. p. DOI: [10.1007/BF02358046](https://doi.org/10.1007/BF02358046)
160. SHOLBERG P. L., BEDFORD K. E., HAAG P., RANDALL P. (2001): Survey of *Erwinia amylovora* isolates from British Columbia for resistance to bactericides and virulence on apple. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 23: 60-67. p. DOI: [10.1080/07060660109506910](https://doi.org/10.1080/07060660109506910)
161. SLAWIAK M., LOJKOWSKA E., VAN DER WOLF J. M. (2008): First report of bacterial soft rot on potato caused by *Dickeya* sp. (syn. *Erwinia chrysanthemi*) in Poland. *New Disease Reports* 18, 25.p.
162. SMIRNOFF N. (1998): Plant resistance to environmental stress. *Current Opinion in Biotechnology*, 9: 214–219. p.
163. SOBICZEWSKY P; DECKERS T., PULAWSKA J. (1997): Fire Blight (*Erwinia amylovora*), *Some Aspects of Epidemiology and Control. Res. Inst. of Pomology and Floriculture*. Poland, 43-46. p.
164. STEFANOVITS-BÁNYAI É., SÁRDI É., LAKATOS S., ZAYAN M., VELICH I. (1998): Drought stress, peroxidase activity and formaldehyde metabolism in bean plants. *Acta Biologica*, 49: 309-316. p.
165. STEFANOVITS-BÁNYAI É., SÁRDI É., KEREPESI I., VÉGVÁRI A., PAIS I. (2000): Effect of cadmium stress on glucose and fructose content in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. 275-278. p. In: GARBAN Z., DRAGAN P. (szerk.): Metal Elements in Environment, Medicine and Biology, Volume IV Proceedings of the 4th International symposium on Metal Elements in Environment, Medicine and Biology, Timisoara, Romania.
166. STEFANOVITSNÉ BÁNYAI É. (2008): Kertészeti növények antioxidáns hatásának vizsgálata. *MTA Doktori értekezés*. 174 p.
167. SVIRCEV A. M., LEHMAN S. M., KIM W. S., BARSZCZ E., SCHNEIDER K. E., CASTLE A. J. (2005): Control of the fire blight pathogen with bacteriophages. *1st Symposium Biocontrol of Bacterial Plant Diseases*, 259-261. p.
168. SZECSKÓ V., HRÓTKÓ K., STEFANOVITS-BÁNYAI É. (2002): Seasonal variability in phenol content, peroxidase and polyphenoloxidase enzyme activity during the dormant season in plum rootstocks. *Proceedings of the 7th Hungarian Congress on Plant Physiology, Acta Biol Szeg*, 46 83-4): 211-212. p.
169. SZECSKÓ V. (2004): A fásdugványok gyökerező képességének fiziológiai összefüggései szilva alanyoknál. *Doktori értekezés*, Budapesti Corvinus Egyetem. p.
170. SZIGETI Z. (1998): Növények és a stressz. 915–984. p. In: LÁNG F. (Szerk.): *Növényélettan – A növényi anyagcsere*. Budapest: ELTE Eötvös Kiadó, 1000 p.
171. THOMSON S. V. (2000): Epidemiology of fire blight. 9-36. p. In: VANNESTE J. V. (szerk.). *Fire Blight. The Disease and its Causative Agent, Erwinia amylovora*. CABI Publishing.
172. TOTTH I. K., VAN DER WOLF J. M., SADDLER G. (2011): *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathology*, 60: 385–399. p. DOI: [10.1111/j.1365-3059.2011.02427.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02427.x)
173. TÓTH M. (2013a): Az alma genetikája és nemesítése. 268-270. p. In: HÖHN M., TÓTH M. (szerk.). *Magyarország kultúrflórája. Az alma*. Budapest: Agroinform Kiadó.
174. TÓTH M. (2013b): Gazdasági jelentőség, felhasználás – Termelés, forgalmazás. 319-326. p. In: HÖHN M., TÓTH M. (szerk.): *Magyarország kultúrflórája. Az alma*. Budapest: Agroinform Kiadó.
175. TÓTH M., FICZEK G., KIRÁLY I., HONTY K., HEVESI M. (2013c): Evaluation of old Carpathian apple cultivars as genetic resources of resistance to fire blight (*Erwinia amylovora*). *Trees-Structure and Function* 27 (3): 597-605 p. DOI: [10.1007/s00468-012-0814-4](https://doi.org/10.1007/s00468-012-0814-4)
176. TÓTH M. (2005): Six promising selections from the Hungarian apple breeding program for multiple resistance. *International Journal of Horticultural Science*, 11 (3): 23-28. p.
177. TÓTH M., FICZEK G., KIRÁLY I., KOVÁCS SZ., HEVESI M. (2012): 'Artemisz', 'Cordelia', 'Hesztia' and 'Rosmerta': New Hungarian Multiresistant Apple Cultivars. *HortScience*, 47 (12): 1795-1800. p.
178. TÓTH M., HEVESI M., HONTY K., KÁSA K. (2005): A Kárpátalján fellelhető alma genotípusok (rég és helyi fajták) tűzelhalással szembeni ellenállósága növényházi vizsgálatok alapján. *Növényvédelem* 41 (8): 341-348. p.

179. TRIAS R., BANERAS L., MONTESINOS E., BADOSA E. (2008): Lactic acid bacteria from fresh fruit and vegetables as biocontrol agents of phytopathogenic bacteria and fungi. *International Microbiology*, 11: 231–236. p. DOI: 10.2436/20.1501.01.66
180. TZENG K. C., MC GUIRE R., KELMAN A. (1990): Resistance of tubers from different potato cultivars to soft rot caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atroseptica*. *American Journal of Potato Research*, 67: 287–305. p. DOI: 10.1007/BF02987271
181. VAN DER MERWE J. J., COUTINHO T. A., KORSTEN L., VAN DER WAALS J. E. (2010): *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* causing blackleg on potatoes in South Africa. *European Journal of Plant Pathology*, 126: 175–185. p.
182. VAN DER ZWET T., BEER S. V. (1995): Fire Blight – Its Nature, Prevention and Control. *USDA Bulletin* No. 631-697. p.
183. 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.
184. VAN HALL C. J. J. (1902): Bijdragen tot de kennis der Bakterieele Plantenziekten, Amsterdam.
185. VANACKER H., CARVER T. L. W., FOYER C. H. (1998): Pathogen-induced changes in the antioxidant status of the apoplast in barley leaves. *Plant Physiology*, 117: 1103–1114. p.
186. VANNESTE J. L. (1996): Honey bees and epiphytic bacteria to control fire blight, a bacterial disease of apple and pear. *Biocontrol News and Information*, 17 (4): 67-78 p.
187. VANNESTE J. L. (2006): Biological control of fire blight: an overview of the work carried out in New Zealand. *Proceedings of the 1st International symposium on Biological Control of Bacterial Plant Diseases*, 408: 224-227. p.
188. VÉGVÁRI A., SÁRDI É., CSŐKE B., STEFANOVITS-BÁNYAI É., SZARKA J., VELICH I. (2000): Changing of carbohydrates by inoculation of *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* on bean lines with different resistance. *International Journal Horticultural Science*, 6 (1): 82-85 p.
189. VLASOV N. M., PEREVERZEV D. S. (1989): Resistance to black leg in potato. 789-794. p. In: KLEMENT Z. (szerk.): *Plant Pathogenic Bacteria*. Akadémia Kiadó, Budapest.
190. WALDEE E. L. (1945): Comparative studies of some peritrichous phytopathogenic bacteria. *Iowa State Coll. J. Sci.*, 19: 435-484. p.
191. WALE S. J., ROBINSON K. (1986): Evaluation of large scale hot water dipping and forced ventilation of seed potatoes to reduce tuber contamination with blackleg bacteria (*Erwinia* spp.). *British Crop Protection Conference – Pests and Diseases*, 1137–1143. p.
192. WATANABE K., ORRILLO M., IWANAGA M., ORTIZ R., FREYRE R., PEREZ S. (1994): Diploid potato germplasm derived from wild and land race genetic resources. *American Journal of Potato Research*, 71: 599–604. p. DOI: 10.1007/BF02851525
193. WELANDER M. (1983): In vitro rooting of the apple rootstock M 26 in adult and juvenile growth phases and acclimatization of the plantlets. *Physiologia Plantarum*, 58 (3): 231-238. p.
194. WINSLOW C. E. A., BROADHURST J., BUCHANAN R. E., KRUMWIEDE J. R. C., ROGERS L. A., SMITH G. H. (1920): The families and genera of the bacteria. Final report of the Committee of the Society of American Bacteriologists on characterization and classification of bacterial types. *Journal of Bacteriology*, 5: 191-229 p.
195. WYATT G., LUND B. (1981): The effect of antibacterial products on bacterial soft rot of potatoes. *Potato Research*, 24: 315–329. p. DOI: 10.1007/BF02360369
196. WYEN N. V., ERDEI S., FARKAS G. L. (1971): Isolation from *Avena* leaf tissues of nuclease with the same specificity towards RNA and DNA. Accumulation of the enzyme during leaf senescence. *Biochimica et biophysica Acta*, 232: 472-483. p.
197. YEPES L. M., ALDWINCKLE H. S. (1994): Micropropagation of thirteen *Malus* cultivars and rootstocks, and effect of antibiotics on proliferation. *Plant Growth Regulation*, 15: 55-67. p. DOI: 10.1007/BF00024677
198. ZIMMERMAN R. H., BROOME O. C. (1980): Apple cultivar micropropagation. In: Zimmerman, R. H. (ed.) *Proc. of Conf. on Nursery Production of Fruit Plants through tissue culture. Applications and Feasibility*, USDA Science, ARNE. 11: 54-58. p.
199. ZIMNOCH-GUZOWSKA E., LEBECKA R., PIETRAK J. (1999): Soft rot and blackleg reactions in diploid potato hybrids inoculated with *Erwinia* spp. *American Journal of Potato Research*, 76: 199–207. DOI: 10.1007/BF02854222
200. ZIMNOCH-GUZOWSKA E., ŁOJKOWSKA E. (1993): Resistance to *Erwinia* spp. in diploid potato with a high starch content. *Potato Research*, 36: 177–182. p. DOI: 10.1007/BF02360525

M2. STATISZTIKAI ÉRTÉKELÉSEK EREDMÉNYTÁBLÁZATAI

2. táblázat. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*-val történő *in vitro* burgonya hajtásfertőzés ANOVA táblázata

Megfigyelési időpont						
1 (fertőzést követő 1. nap)	Between Groups	1,311	12	,109	6,709	,000
	Within Groups	,423	26	,016		
	Total	1,735	38			
2 (fertőzést követő 3. nap)	Between Groups	16,512	12	1,376	8,585	,000
	Within Groups	4,167	26	,160		
	Total	20,680	38			
3 (fertőzést követő 7. nap)	Between Groups	43,521	12	3,627	17,851	,000
	Within Groups	5,282	26	,203		
	Total	48,803	38			

3. táblázat. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*-val történő *in vitro* burgonya hajtásfertőzés Tukey B eredmény-táblázatai

Megfigyelési időpont=1				
77365/103		1,000		
77399/514		1,000		
Rachel		1,000		
1469/83		1,057		
Cleopátra		1,070		
Réka		1,100	1,100	
736/82		1,133	1,133	
36/92		1,240	1,240	
136/92		1,253	1,253	
34/85		1,263	1,263	
Boró		1,297	1,297	
Desiree			1,440	1,440
98/91				1,637

Megfigyelési időpont=2				
77365/103		1,063		
77399/514		1,090		
Rachel		1,223		
1469/83		1,247		
Cleopátra		1,403		
Réka		1,463		
736/82		1,690	1,690	
36/92		1,837	1,837	1,837
136/92		1,930	1,930	1,930
34/85			2,630	2,630
Boró			2,737	2,737
Desiree			2,750	2,750
98/91				2,833

Megfigyelési időpont=3					
77365/103		1,630			
Rachel		1,760			
77399/514		2,107	2,107		
Réka		2,373	2,373		
Cleopátra		2,657	2,657		
Desiree			3,037	3,037	
1469/83			3,040	3,040	
36/92			3,280	3,280	
136/92				3,930	3,930
736/82				4,040	4,040
Boró					4,653
34/85					4,673
98/91					4,690

4. táblázat. *Dickeya dadantii*-val történő *in vitro* burgonya hajtásfertőzés ANOVA táblázata

Megfigyelési időpont						
1 (fertőzést követő 1. nap)	Between Groups	,143	12	,012	2,828	,013
	Within Groups	,110	26	,004		
	Total	,253	38			
2 (fertőzést követő 3. nap)	Between Groups	3,749	12	,312	10,391	,000
	Within Groups	,782	26	,030		
	Total	4,531	38			
3 (fertőzést követő 7. nap)	Between Groups	4,770	12	,398	6,393	,000
	Within Groups	1,617	26	,062		
	Total	6,387	38			

5. táblázat. *Dickeya dadanti*ivel történő *in vitro* burgonya hajtásfertőzés Tukey B eredmény-táblázatai

Megfigyelési időpont=1		
1469/83		1,0000
77365/103		1,0000
77399/514		1,0000
Rachel		1,0000
736/82		1,0133
34/85		1,0167
Réka		1,0300
Cleopátra		1,0733
98/91		1,1000
36/92		1,1133
Desiree		1,1233
136/92		1,1333
Boró		1,1800

Megfigyelési időpont=2					
34/85		1,0633			
Rachel		1,0767			
1469/83		1,1067			
77399/514		1,1200			
77365/103		1,1300			
Cleopátra		1,1633	1,1633		
Réka		1,1667	1,1667		
36/92		1,3967	1,3967	1,3967	
736/82		1,4767	1,4767	1,4767	
98/91		1,4867	1,4867	1,4867	
Desiree			1,6300	1,6300	
Boró				1,8167	1,8167
136/92					2,0800

Megfigyelési időpont=3				
34/85		1,1567		
Rachel		1,3300	1,3300	
77399/514		1,3367	1,3367	
Cleopátra		1,4000	1,4000	
1469/83		1,5733	1,5733	
77365/103		1,6467	1,6467	1,6467
Réka		1,7500	1,7500	1,7500
36/92		1,7800	1,7800	1,7800
98/91		1,8367	1,8367	1,8367
736/82		1,8667	1,8667	1,8667
Desiree			1,9000	1,9000
136/92				2,3333
Boró				2,3500

6. táblázat. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*-val történő *in vitro* burgonya hajtásfertőzés követő harmadik napos visszaizolálás ANOVA táblázata

Visszaizolálás helye						
1 (szűrés alatt)	Between Groups	1386089,590	12	115507,466	2,871	,002
	Within Groups	4184721,333	104	40237,705		
	Total	5570810,923	116			
2 (szűrés helye)	Between Groups	6777406,564	12	564783,880	6,706	,000
	Within Groups	8759488,222	104	84225,848		
	Total	15536894,786	116			
3 (szűrés felett)	Between Groups	83160,479	12	6930,040	4,460	,000
	Within Groups	161599,333	104	1553,840		
	Total	244759,812	116			

7. táblázat. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*-val történő *in vitro* burgonya hajtásfertőzés követő harmadik napos visszaizolálás Tukey B eredmény-táblázatai

Visszaizolálás helye=1 (szűrés alatt)				Visszaizolálás helye=2 (szűrés helye)				
1469/83	9	4,22		77399/514	9	7,33		
77399/514	9	5,33		Rachel	9	11,56		
Rachel	9	5,89		77365/103	9	14,78		
77365/103	9	7,67		1469/83	9	24,89		
Cleopátra	9	39,89		Cleopátra	9	55,56		
Réka	9	90,44	90,44	Réka	9	105,67	105,67	
34/85	9	107,22	107,22	34/85	9	133,33	133,33	
Desiree	9	146,44	146,44	Desiree	9	178,56	178,56	
736/82	9	160,22	160,22	736/82	9	190,33	190,33	
36/92	9	189,00	189,00	36/92	9	219,11	219,11	
136/92	9	218,00	218,00	136/92	9	253,44	253,44	
Boró	9	247,89	247,89	Boró	9		514,00	
98/91	9		367,78	98/91	9			892,00

Visszaizolálás helye=3 (szűrés felett)			
77365/103	9	,00	
77399/514	9	,00	
Rachel	9	,00	
1469/83	9	1,22	
Cleopátra	9	2,33	
Réka	9	5,33	
34/85	9	8,33	
Desiree	9	13,22	
736/82	9	22,44	
36/92	9	29,56	
136/92	9	42,67	42,67
Boró	9	61,22	61,22
98/91	9		88,44

8. táblázat. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*-val történő *in vitro* burgonya hajtásfertőzés követő hetedik napos visszaizolálás ANOVA táblázata

Visszaizolálás helye						
1 (szűrés alatt)	Between Groups	11117707,556	12	926475,630	4,075	,000
	Within Groups	23647274,667	104	227377,641		
	Total	34764982,222	116			
2 (szűrés helye)	Between Groups	9427664,632	12	785638,719	4,021	,000
	Within Groups	20318538,667	104	195370,564		
	Total	29746203,299	116			
3 (szűrés felett)	Between Groups	10888691,692	12	907390,974	5,529	,000
	Within Groups	17067846,000	104	164113,904		
	Total	27956537,692	116			

9. táblázat. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*-val történő *in vitro* burgonya hajtásfertőzés követő hetedik napos visszaizolálás Tukey B eredmény-táblázatai

Visszaizolálás helye=1 (szűrés alatt)			
77365/103	9	31,00	
136/92	9	55,78	
Rachel	9	59,89	
77399/514	9	70,11	
Cleopátra	9	87,56	
Réka	9	100,89	
Desiree	9	130,78	
1469/83	9	161,78	
36/92	9	225,00	
736/82	9	338,33	
Boró	9	421,44	
34/85	9	577,89	577,89
98/91	9		1181,67

Visszaizolálás helye=2 (szűrés helye)			
77365/103	9	14,44	
Rachel	9	20,33	
77399/514	9	32,67	
Réka	9	69,00	
Cleopátra	9	76,00	
Desiree	9	109,89	
1469/83	9	135,00	
36/92	9	177,56	
34/85	9	242,44	
736/82	9	264,11	
Boró	9	275,33	
136/92	9	280,67	
98/91	9		1145,44

Visszaizolálás helye=3 (szűrés felett)			
77399/514	9	6,11	
77365/103	9	6,33	
Rachel	9	7,44	
Cleopátra	9	7,67	
Réka	9	9,56	
Desiree	9	12,22	
1469/83	9	18,78	
Boró	9	18,78	
34/85	9	28,00	
36/92	9	28,78	
736/82	9	64,11	
136/92	9	332,22	
98/91	9		1145,00

10. táblázat. *Dickeya dadantii*-val történő *in vitro* burgonya hajtásfertőzés követő harmadik napos visszaizolálás ANOVA táblázata

Visszaizolálás helye						
1 (szűrés alatt)	Between Groups	810212,103	12	67517,675	3,430	,000
	Within Groups	2047334,667	104	19685,910		
	Total	2857546,769	116			
2 (szűrés helye)	Between Groups	1967413,453	12	163951,121	2,968	,001
	Within Groups	5745083,333	104	55241,186		
	Total	7712496,786	116			
3 (szűrés felett)	Between Groups	86312,530	12	7192,711	3,925	,000
	Within Groups	190575,778	104	1832,459		
	Total	276888,308	116			

11. táblázat. *Dickeya dadantii*-val történő *in vitro* burgonya hajtásfertőzés követő harmadik napos visszaizolálás Tukey B eredmény-táblázatai

Visszaizolálás helye=1 (szűrés alatt)			
34/85	9	3,00	
Rachel	9	4,56	
1469/83	9	9,67	
36/92	9	12,89	
77365/103	9	16,56	
Réka	9	25,22	
Cleopátra	9	28,11	
Desiree	9	42,89	
77399/514	9	52,33	
736/82	9	119,78	119,78
Boró	9	144,78	144,78
98/91	9	161,89	161,89
136/92	9		294,00

Visszaizolálás helye=2 (szűrés helye)			
34/85	9	4,00	
Rachel	9	8,11	
1469/83	9	33,00	33,00
Réka	9	37,11	37,11
36/92	9	42,33	42,33
77365/103	9	58,78	58,78
Cleopátra	9	61,33	61,33
77399/514	9	64,33	64,33
736/82	9	165,33	165,33
98/91	9	185,67	185,67
Desiree	9	230,89	230,89
Boró	9		379,78
136/92	9		396,78

Visszaizolálás helye=3 (szűrés felett)				
Rachel	9	,00		
34/85	9	,22		
77399/514	9	,22		
Desiree	9	3,44		
36/92	9	4,22		
1469/83	9	4,56		
77365/103	9	5,33		
Cleopátra	9	11,56		
98/91	9	15,89	15,89	
Réka	9	23,22	23,22	
736/82	9	27,67	27,67	27,67
Boró	9		76,00	76,00
136/92	9			84,33

12. táblázat. *Dickeya dadantii*-val történő *in vitro* burgonya hajtásfertőzés követő hetedik napos visszaizolálás ANOVA táblázata

Visszaizolálás helye						
1 (szűrés alatt)	Between Groups	764950,581	12	63745,882	2,985	,001
	Within Groups	2220831,333	104	21354,147		
	Total	2985781,915	116			
2 (szűrés helye)	Between Groups	6429062,325	12	535755,194	4,514	,000
	Within Groups	12343308,444	104	118685,658		
	Total	18772370,769	116			
3 (szűrés felett)	Between Groups	84152,444	12	7012,704	4,346	,000
	Within Groups	167827,111	104	1613,722		
	Total	251979,556	116			

13. táblázat. *Dickeya dadantii*-val történő *in vitro* burgonya hajtásfertőzés követő hetedik napos visszaizolálás Tukey B eredmény-táblázata

Visszaizolálás helye=1 (szűrés alatt)			
Rachel	9	32,11	
77399/514	9	35,56	
1469/83	9	36,11	
34/85	9	36,67	
Cleopátra	9	37,22	
36/92	9	39,00	
77365/103	9	44,67	
Réka	9	44,67	
Boró	9	125,67	125,67
98/91	9	135,33	135,33
Desiree	9	170,67	170,67
736/82	9	195,44	195,44
136/92	9		296,78

Visszaizolálás helye=2 (szűrés helye)			
34/85	9	40,33	
Rachel	9	55,56	
77399/514	9	56,67	
Cleopátra	9	78,33	
1469/83	9	78,89	
77365/103	9	85,11	
Réka	9	96,11	
36/92	9	109,56	
98/91	9	179,89	
736/82	9	201,78	
Desiree	9	242,00	
136/92	9	397,33	
Boró	9		938,11

Visszaizolálás helye=3 (szűrés felett)			
Réka	9	1,11	
77399/514	9	1,22	
36/92	9	2,00	
Rachel	9	3,11	
77365/103	9	4,22	
34/85	9	4,33	
1469/83	9	5,00	
Cleopátra	9	5,67	
98/91	9	7,00	
736/82	9	8,00	
Desiree	9	20,33	
Boró	9		76,56
136/92	9		81,00

14. táblázat. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*-val történő *in vitro* burgonya gumófertőzés ANOVA táblázata

Időpont						
1 (fertőzést követő 1. nap)	Between Groups	215,292	12	17,941	6,330	,000
	Within Groups	1011,800	357	2,834		
	Total	1227,092	369			
2 (fertőzést követő 3. nap)	Between Groups	194,169	12	16,181	4,714	,000
	Within Groups	1225,333	357	3,432		
	Total	1419,503	369			
3 (fertőzést követő 7. nap)	Between Groups	34,658	12	2,888	,933	,514
	Within Groups	1105,367	357	3,096		
	Total	1140,024	369			

15. táblázat. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*-val történő *in vitro* burgonya gumófertőzés Tukey B eredménytáblázatai

időpont=1			
98/91	30	1,27	
Rachel	10	1,30	
34/85	30	1,33	
Cleopátra	30	2,17	2,17
36/92	30	2,67	2,67
Réka	30	2,70	2,70
136/92	30		2,80
Desiree	30		2,87
77365/103	30		2,93
Boró	30		3,13
77399/514	30		3,20
1469/83	30		3,63
736/82	30		3,67

időpont=2				
98/91	30	1,33		
Rachel	10	1,80	1,80	
34/85	30	2,87	2,87	2,87
36/92	30	2,87	2,87	2,87
Cleopátra	30	2,87	2,87	2,87
Réka	30		3,00	3,00
Desiree	30		3,30	3,30
Boró	30		3,33	3,33
77365/103	30			3,73
136/92	30			3,80
1469/83	30			3,83
736/82	30			3,83
77399/514	30			3,90

időpont=3			
Rachel	10	2,60	
34/85	30	3,53	3,53
36/92	30	3,80	3,80
Réka	30	3,80	3,80
Boró	30	3,80	3,80
77399/514	30	3,93	3,93
77365/103	30	4,07	4,07
1469/83	30	4,07	4,07
Desiree	30	4,07	4,07
736/82	30	4,10	4,10
136/92	30	4,13	4,13
Cleopátra	30	4,20	4,20
98/91	30		4,33

16. táblázat. *Dickeya dadantii*-val történő *in vitro* burgonya gumófertőzés ANOVA táblázata

Időpont							
1 (fertőzést követő 1. nap)	1	Between Groups	70,716	12	5,893	2,860	,001
		Within Groups	745,833	362	2,060		
		Total	816,549	374			
2 (fertőzést követő 3. nap)	1	Between Groups	98,236	12	8,186	2,228	,010
		Within Groups	1330,100	362	3,674		
		Total	1428,336	374			
	2 (kontroll)	Between Groups	21,217	12	1,768	1,988	,024
		Within Groups	321,940	362	,889		
		Total	343,157	374			
3 (fertőzést követő 7. nap)	1	Between Groups	177,823	12	14,819	4,481	,000
		Within Groups	1197,110	362	3,307		
		Total	1374,933	374			

17. táblázat. *Dickeya dadantii*-val történő *in vitro* burgonya gumófertőzés Tukey B eredménytáblázata

időpont=1 kezelés=1 (fertőzött)			
77399/514	30	1,17	
36/92	25	1,60	1,60
136/92	30	1,60	1,60
34/85	30	1,63	1,63
736/82	30	1,77	1,77
Réka	30	1,80	1,80
1469/83	20	1,90	1,90
98/91	30	1,93	1,93
Desiree	30	2,00	2,00
77365/103	30	2,37	2,37
Rachel	30		2,43
Boró	30		2,53
Cleopátra	30		2,73

időpont=2 kezelés=1 (fertőzött)			
77399/514	30	1,73	
34/85	30	2,23	2,23
136/92	30	2,47	2,47
36/92	25	2,60	2,60
98/91	30	2,73	2,73
Réka	30	2,73	2,73
1469/83	20	2,80	2,80
736/82	30	3,10	3,10
Rachel	30	3,10	3,10
77365/103	30	3,13	3,13
Desiree	30	3,13	3,13
Cleopátra	30		3,53
Boró	30		3,67

időpont=3 kezelés=1 (fertőzött)				
77399/514	30	1,93		
136/92	30	2,60	2,60	
34/85	30	2,97	2,97	2,97
Réka	30	3,00	3,00	3,00
1469/83	20	3,15	3,15	3,15
36/92	25	3,16	3,16	3,16
736/82	30	3,20	3,20	3,20
77365/103	30		3,70	3,70
Rachel	30		3,97	3,97
98/91	30		4,07	4,07
Desiree	30		4,07	4,07
Cleopátra	30		4,10	4,10
Boró	30			4,33

időpont=2 kezelés=2 (kontroll)		
1469/83	20	1,00
34/85	30	1,03
136/92	30	1,03
98/91	30	1,03
77365/103	30	1,10
36/92	25	1,12
736/82	30	1,23
77399/514	30	1,27
Boró	30	1,37
Desiree	30	1,40
Cleopátra	30	1,53
Réka	30	1,63
Rachel	30	1,73

18. táblázat. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*-val történő üvegházi burgonya gumófertőzés ANOVA táblázata

%	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	61458,171	12	5121,514	11,327	,000
Within Groups	220194,182	487	452,144		
Total	281652,354	499			

19. táblázat. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*-val történő üvegházi burgonya gumófertőzés Tukey B eredménytáblázatai

Fajta	N	1	2	3	4	5
Réka	40	3,8698				
36/92	40	6,4593				
1469/83	40	8,7528				
34/85	40	11,3808	11,3808			
77365/103	40	13,8620	13,8620	13,8620		
736/82	40	16,9950	16,9950	16,9950	16,9950	
Rachel	40		24,2953	24,2953	24,2953	24,2953
Desiree	40			26,6768	26,6768	26,6768
98/91	40			28,7568	28,7568	28,7568
Boró	40				31,2528	31,2528
Cleopátra	20					32,9925
136/92	40					33,5675
77399/514	40					37,8598

20. táblázat. *Dickeya dadantii*-val történő üvegházi burgonya gumófertőzés ANOVA táblázata

%	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	64935,902	12	5411,325	9,430	,000
Within Groups	290944,115	507	573,854		
Total	355880,016	519			

21. táblázat. *Dickeya dadantii*-val történő üvegházi burgonya gumófertőzés Tukey B eredménytáblázatai

Fajta	N	1	2	3	4	5	6
Cleopátra	40	2,70					
1469/83	40	9,27	9,27				
Réka	40	15,79	15,79	15,79			
36/92	40	18,42	18,42	18,42	18,42		
34/85	40		19,96	19,96	19,96		
77365/103	40		21,33	21,33	21,33		
98/91	40		23,36	23,36	23,36		
Rachel	40		25,14	25,14	25,14	25,14	
736/82	40			29,88	29,88	29,88	29,88
Desiree	40			32,09	32,09	32,09	32,09
136/92	40				33,73	33,73	33,73
Boró	40					40,76	40,76
77399/514	40						42,82

22. táblázat. *Erwinia amylovora*-val történő *in vitro* alma hajtásfertőzés ANOVA táblázata

Kezelés	Időpont						
1 (fertőzött)	1 (fertőzést követő 2. nap)	Between Groups	28,335	6	4,723	23,635	,000
		Within Groups	60,944	305	,200		
		Total	89,279	311			
	2 (fertőzést követő 5. nap)	Between Groups	88,488	6	14,748	15,951	,000
		Within Groups	281,081	304	,925		
		Total	369,569	310			
	3 (fertőzést követő 8. nap)	Between Groups	110,934	6	18,489	17,016	,000
		Within Groups	310,759	286	1,087		
		Total	421,693	292			
2 (kontroll)	1 (fertőzést követő 2. nap)	Between Groups	,452	6	,075	1,697	,140
		Within Groups	2,400	54	,044		
		Total	2,852	60			
	2 (fertőzést követő 5. nap)	Between Groups	1,369	6	,228	1,460	,210
		Within Groups	8,281	53	,156		
		Total	9,650	59			
	3 (fertőzést követő 8. nap)	Between Groups	2,302	6	,384	1,904	,097
		Within Groups	10,681	53	,202		
		Total	12,983	59			

23. táblázat. *Erwinia amylovora*-val történő *in vitro* alma hajtásfertőzés Tukey B eredménytáblázatai

kezelés=1 (fertőzött) időpont=1				
Húsvéti rozmaring	52	,12		
Red Fuji	46	,20		
Freedom	46	,20		
Tenroy	45		,51	
Hesztia	37		,51	
Idared	36		,75	,75
Jonagold	50			,96

kezelés=1 (fertőzött) időpont=3				
Red Fuji	43	2,93		
Freedom	43	3,42	3,42	
Idared	33		3,79	
Húsvéti rozmaring	48		3,83	
Hesztia	34		3,85	
Tenroy	42			4,69
Jonagold	50			4,72

kezelés=2 (kontroll) időpont=1		
Idared	5	,00
Húsvéti rozmaring	8	,00
Red Fuji	13	,00
Tenroy	10	,00
Freedom	10	,00
Hesztia	5	,20
Jonagold	10	,20

időpont=2 kezelés=2 (kontroll)		
Húsvéti rozmaring	8	,00
Hesztia	5	,00
Freedom	10	,10
Tenroy	9	,11
Red Fuji	13	,15
Jonagold	10	,20
Idared	5	,60

kezelés=2 (kontroll) időpont=3			
Húsvéti rozmaring	8	,00	
Freedom	10	,10	
Tenroy	9	,11	
Red Fuji	13	,15	,15
Hesztia	5	,20	,20
Jonagold	10	,20	,20
Idared	5		,80

kezelés=1 (fertőzött) időpont=2					
Red Fuji	46	1,80			
Freedom	46	1,89			
Hesztia	37	2,32	2,32		
Idared	36		2,47		
Húsvéti rozmaring	51		2,69	2,69	
Jonagold	50			3,08	3,08
Tenroy	45				3,31

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt szeretném hálás köszönetemet kifejezni témavezetőmnek, Dr. Tóth Magdolnának, hogy lehetőséget biztosított a tanulmányaimhoz és mindenben támogatta a munkámat, valamint értékes szakmai segítséget nyújtott a dolgozatom elkészültéhez.

Dr. Hevesi Máriának külön köszönöm azt a végtelen türelmet, mellyel az utamat egyengette, hogy megosztotta velem szakmai tudását és segített a kísérleteim megtervezésében és kivitelezésében. Számomra nagyon sokat jelentett, hogy bármikor, bármilyen kérdéssel és kéréssel fordulhattam hozzá, feltétlen segítséget kaptam.

Köszönöm a Gyümölcstermő Növények Tanszék valamennyi munkatársának a segítségét.

Nagyon köszönöm az Alkalmazott Kémia Tanszéken Stefanovitsné dr. Bányai Évának, hogy segített az enzimaktivitás mérések kivitelezésében, valamint felbecsülhetetlen segítséget nyújtott a dolgozatomhoz.

Hálával tartozom dr. Végvári Györgynek, hogy segített a HPLC-vel való szénhidráttartalom meghatározásokban.

Természetesen ez a dolgozat nem jött volna létre a Debreceni Egyetem ATK Nyíregyházi Kutató Intézet Biotechnológiai Laboratóriumának volt és jelenlegi munkatársai nélkül. Nagyon köszönöm a segítségüket.

Hálás vagyok közvetlen felettesemnek, Dr. Dobránszki Juditnak és közvetlen munkatársamnak, Magyarné Dr. Tábori Katalinnak a szakmai és emberi támogatásukért.

Végül, de nem utolsó sorban, köszönet a családomnak a türelmükért, a töretlen biztatásukért és a folyamatos támogatásukért.