



Doktori (PhD) értekezés

Magyar diófajták és erdélyi diószelekciók termésmorfológiai sajátosságainak és xantomonaszos betegséggel szembeni ellenállóságának összehasonlító értékelése a fenolos vegyületekkel összefüggésben

Bandi Attila

Témavezető: Tóth Magdolna DSc

Budapesti Corvinus Egyetem
Gyümölcstermő Növények Tanszék

Budapest, 2015

A doktori iskola

megnevezése:	Kertészettudományi Doktori Iskola
tudományága:	Növénytermesztési és kertészeti tudományok
vezetője:	Dr. Tóth Magdolna egyetemi tanár DSc Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar, Gyümölcstermő Növények Tanszék
Témavezető:	Dr. Tóth Magdolna egyetemi tanár DSc Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar, Gyümölcstermő Növények Tanszék

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

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

A Budapesti Corvinus Egyetem Élettudományi Területi Doktori Tanács 2015. június 9. -i határozatában a nyilvános vita lefolytatására az alábbi bíráló Bizottságot jelölte ki:

BÍRÁLÓ BIZOTTSÁG:

Elnöke:

Palkovics László DSc, BCE

Tagjai:

Papp István PhD, BCE

Rozsnyay Zsuzsa CSc, NAIK

Süle Sándor DSc, MTA ATK

Opponensek:

Bujdosó Géza PhD, NAIK

Király Lóránt PhD, MTA ATK

Titkár:

Szabó Krisztina PhD, BCE

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	4
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	5
2.1. A DIÓTERMESZTÉS JELENLEGI HELYZETE	5
2.2. A KÖZÖNSÉGES DIÓ (<i>Juglans regia</i> L.) SZÁRMAZÁSA ÉS ELTERJEDÉSE	7
2.3. A DIÓNEMESÍTÉS TÖRTÉNETI ÁTTEKINTÉSE	10
2.4. A DIÓFAJTÁK ÁRUÉRTÉKE	13
2.5. A DIÓ ELLENÁLLÓSÁGA A BAKTÉRIUMOS FOLTOSÁG KÓROKOZÓJÁVAL (<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>juglandis</i>) SZEMBEN	16
2.6. A FENOLVEGYÜLETEK SZEREPE A DIÓ VÉDEKEZÉSI MECHANIZMUSÁBAN	19
2.7. A DIÓT KÁROSÍTÓ BAKTÉRIUM NEVEZÉKTANA, MEGJELENÉSE ÉS ELTERJEDÉSE	21
2.8. A BETEGSÉG TÜNETEI	23
2.9. A KÓROKOZÓ ÉLETMÓDJA ÉS FEJLŐDÉSMENETE	24
2.10. A BETEGSÉG KIALAKULÁSÁT BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK	27
2.10.1. Kórokozó fertőzőképessége (virulenciája)	28
2.10.2. Inokulum mennyiség	28
2.10.3. A gazdanövény fogékonysága	29
2.11. A KÖRNYEZETI TÉNYEZŐK HATÁSA A BETEGSÉG KIALAKULÁSÁRA	29
2.12. A BETEGSÉG ELLENI VÉDEKEZÉS LEHETŐSÉGEI	30
2.12.1. Réz hatóanyag-tartalmú és réz hatóanyag-tartalom nélküli kezelések	30
2.12.2. A réz alapú permetezések időzítése	31
2.12.3. Biológiai módszerek	32
2.12.4. Előrejelzésen alapuló megoldások	33
3. CÉLKITŰZÉSEK	34
4. ANYAG ÉS MÓDSZER	35
4.1. DIÓPOPULÁCIÓK DIVERZITÁSÁNAK FELMÉRÉSE ERDÉLYBEN	35
4.1.1. A szabadföldi kísérletek helye és növényanyaga	35
4.1.2. A vizsgált termőhelyek domborzati és éghajlati jellemzői	36
4.1.3. A termések fizikai paramétereinek mérési módszerei	39
4.1.4. A diópopulációk <i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>juglandis</i> fogékonyságának értékelése szabadföldön	41
4.2. A XANTOMONASZRA VALÓ FOGÉKONYSÁG VIZSGÁLATA MESTERSÉGES INOKULÁCIÓ ALAPJÁN	42
4.2.1. Növényanyag	42
4.2.2. Baktériumtörzsek	42
Izolálás	42
Hiperszenzitív reakció	43
4.2.3. A fertőzéshez használt izolátumok (magyarországi és erdélyi) biokémiai tulajdonságainak vizsgálata	44

4.2.4. Baktériumsejt-szuszpenzió előállítása-----	46
4.2.5. Inokuláció -----	46
4.2.6. A termékek fogékonyságának felmérése -----	46
4.3. A FERTŐZÉS ÉLETTANI HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA-----	48
4.3.1. Mintaszedés helye és időpontja -----	48
4.3.2. Mintaelőkészítés a fenolvegyületek HPLC-s meghatározásához-----	48
4.3.3. Felhasznált vegyszerek -----	49
4.3.4 A fenolvegyületek HPLC-s mérésének analitikai körülményei -----	49
4.4. FENOLVEGYÜLETEK KÖZVETLEN ANTIBAKTERIÁLIS HATÁSÁNAK <i>IN VITRO</i> VIZSGÁLATI MÓDSZERE -----	50
4.4.1. A színváltozás mérése a színkoordináták meghatározásával-----	51
4.4.2. Az antibakteriális hatás igazolása lemezöntés módszerrel -----	52
4.4.3. A zöldburok-szövetnedv antibakteriális hatásának vizsgálati eljárása -----	53
Összes polifenol-tartalom meghatározása -----	54
4.5. STATISZTIKAI ÉRTÉKELÉS MÓDSZEREI -----	55
5. EREDMÉNYEK-----	56
5.1. ERDÉLYI DIÓPOPULÁCIÓK ÉRTÉKELÉSE PERSPEKTIVIKUS FAJTÁK KIEMELÉSE SZEMPONTJÁBÓL -----	56
5.1.1. Dióállományok termésmorfológiai variabilitása-----	56
Termésalak és terméshéj vastagság-----	58
5.1.2. Dióállományok xantomonasz betegségre való fogékonyságának variabilitása szabadföldi felmérések alapján -----	59
5.2. A BEGYŰJTÖTT IZOLÁTUMOK AZONOSÍTÁSA ÉS RÉZÉRZÉKENYSÉGE-----	65
5.3. MAGYAR DIÓFAJTÁK ÉS ERDÉLYI SZELEKCIÓK XANTOMONASZOS BETEGSÉGRE VALÓ FOGÉKONYSÁGA MESTERSÉGES INOKULÁCIÓ ALAPJÁN -----	69
5.4. A FERTŐZÉS ÉLETTANI HÁTTÉRÉVEL KAPCSOLATOS EREDMÉNYEK -----	72
5.5. FENOLVEGYÜLETEK ANTIBAKTERIÁLIS HATÁSA -----	94
5.5.1. Az antibakteriális hatás igazolása fényméréssel -----	95
5.5.2. Az antibakteriális hatás igazolása lemezöntés módszerrel -----	97
5.5.3. A zöldburok-présnedv antibakteriális hatása -----	99
6. EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA ÉS KÖVETKEZTETÉSEK-----	102
6.1. ERDÉLYBEN VIZSGÁLT DIÓÁLLOMÁNY TERMÉSMINŐSÉGÉNEK ÉRTÉKELÉSE -----	102
6.2. AZ IZOLÁTUMOK BIOKÉMIAI, FIZIOLÓGIAI REAKCIÓINAK ÉRTÉKELÉSE-----	107
6.3. A <i>Xaj</i> BAKTÉRIUMRA VALÓ FOGÉKONYSÁGGAL KAPCSOLATOS EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA ÉS ÉRTÉKELÉSE -----	108
6.4. A DIÓ VÉDELMI MECHANIZMUSÁBAN RÉSZT VEVŐ FENOLVEGYÜLETEK SZEREPE -----	109
7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK -----	113
8. ÖSSZEFOGLALÁS-----	114
9. SUMMARY-----	117
10. IRODALOMJEGYZÉK-----	120
11. MELLÉKLETEK-----	141
12. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS -----	150

RÖVIDÍTÉSEK, JELÖLÉSEK JEGYZÉKE

AKI PÁIR	Agrárgazdasági Kutatóintézet Piaci Árinformációs Rendszer
a.r.	analitikai reagens (Nagy tisztaságú vegyszerek kutatási, illetve nagy pontosságú analitikai és fizikai-kémiai vizsgálatokhoz.)
CABI/EPPO	Commonwealth Agricultural Bureaux International / European and Mediterranean Plant Protection Organization
CFU/ml	colony-forming unit: telepképző egység
CIE	Comission Internationale de la Éclargie
CV	variációs koefficiens
DMSO	Dimethyl sulfoxide: dimetil-szulfoxid
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FAOSTAT	FAO statisztikai adatbázisának online keresőfelülete
Fm	fertőzöttség mértéke
FW	fresh weight: nyers tömeg
GS	galluszsav
HPLC	High Performance Liquid Cromatography (High Pressure Liquid Cromatography): nagy hatékonyságú/nyomású folyadék komatográfia
hS	highly susceptible: nagyon fogékony
IVS	index of varietal susceptibility: fajtánkénti fogékonysági index
KSH	Központi Statisztikai Hivatal
mR	moderate resistant: mérsékelten rezisztens
mS	moderate susceptible: mérsékelten fogékony
MTT	3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazólium bromid
NCPPB	National Collection of Plant Pathogenic Bacteria: Egyesült Királyság York-i Növény Kórokozó Baktériumok Nemzeti Gyűjteménye
S	susceptible: fogékony
SE	standard error: átlag hibája
<i>Xaj</i>	<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>juglandis</i> (Pierce) Vauterin <i>et al.</i>

1. BEVEZETÉS

A közönséges dió (*Juglans regia* L.), amely egyike a legrégebbi gyümölcsfajoknak, megkülönböztetett gazdasági és szociális értékkel bír. Ezen fontosságát elsősorban kiváló tápértékű termésének - amely fogyasztható önmagában és feldolgozva is - és értékes fájának köszönheti. Mindkét termék, úgy a belföldi, mint a külföldi piacon nagy keresletnek örvend.

A diótermesztés fejlődését nagyban elősegítik a nemesítési kutatások, olyan fajták és hibridek előállításával, amelyek megfelelőek mind a termesztés, mind a piac igényeinek. Magyarországon Szentiványi Péter által megkezdett szelekciós munka révén, majd később az 1970-es évek elejétől azt felváltó hibridizációs nemesítés eredményeként nemzetközi mércével mérhető kiváló tulajdonságokkal rendelkező fajtákat sikerült előállítani.

Napjainkban továbbra is aktuális újabb és újabb génforrások felkutatása és rögzítése a diótermesztés továbbfejlesztése érdekében. Európa szerte jelentős szelekciós munka valósult meg a helyi diópopulációk átvizsgálásával. Számos tanulmányban találhatunk újabb és újabb információkat a fellelhető értékes szelekciókról. A cél olyan dió genotípusok felkutatása vagy hibrid fajták előállítása, amelyek megfelelő áruértékkel, toleranciával és termelésbiztonsággal rendelkeznek, valamint az adott termesztőtáj pedoklimatikus viszonyaihoz leginkább megfelelnek.

Erdélyben a dióállomány 90%-a magonc, ami nagy genetikai változatosságot eredményez a különböző mennyiségi és minőségi tulajdonságok, így a termésjellemzők és a kórokozókkal szembeni ellenálló-képesség megnyilvánulását illetően. A jó toleranciával és megfelelő termésminőséggel rendelkező egyedek értékes kiindulási anyagot jelenthetnek a jövő diónemesítési munkáiban is.

Az utóbbi években felerősödtek a dió baktériumos foltosság (*Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* (Pierce) Vauterin *et al.*) által kiváltott termesztési problémák. A diófajták eltérő fogékonysággal rendelkeznek e kórokozóval szemben. Ebből kifolyólag adott termőévben fajtától függően akár teljes termés kieséssel kell számolni.

Számos szakirodalom beszámol a diófajták különböző fogékonyságáról, azonban ezen adatok csak irányadó jelleggel vehetők figyelembe, mivel Magyarországon, hasonlóan más diótermesztő országokhoz, a helyben nemesített fajtákat termesztik. Ezért nagy jelentőségű a különböző fajták fogékonyságával kapcsolatos ismeretek bővítése, valamint az adott populációkból származó genotípusok vizsgálata és értékelése.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A DIÓTERMESZTÉS JELENLEGI HELYZETE

A világ héjasdió-termelése nagymértékű növekedést mutatott az elmúlt években. A FAO adatai szerint 2012-ben a világ diótermése elérte a 3,4 millió tonnát. Kína fejlődött a legdinamikusabban, megkétszerezve a 2012-es évi termelését a 2008-as évhez viszonyítva. Kína után Irán az évi 450 ezer tonna termés mennyiségével a második legnagyobb diótermelő. Az Egyesült Államok a harmadik helyet (425,8 ezer tonna) foglalja el (FAOSTAT, 2014). Az Egyesült Államokban Kalifornia állam biztosítja az ország csaknem összes diótermését. Törökország éves termelése 2012-ben elérte a 194000 tonnát, 2014-ben a kedvezőtlen időjárás miatt 60 százalékkal, 30 ezer tonnára esett a termés 2014-ben az előző évihez viszonyítva. Az ötödik legnagyobb termelő Ukrajna, amelynek éves termése 97 ezer tonna (1. táblázat).

1. táblázat. A legfontosabb diótermelő országok héjasdiótermés alakulása (ezer t)

Ország	2008	2009	2010	2011	2012
Kína	828,6	979,5	1284,4	1655,5	1700
Irán	433,6	463	433,63	390	450
USA	395,5	396,4	457,2	418,2	425,8
Törökország	170,9	177,3	178,1	183,2	194,0
Ukrajna	79,2	84	87,4	113	97
India	37	36	38	36	40
Chile	24	26	32,5	37,5	38
Franciaország	37	20	32	38,3	36,5
Románia	32,2	38,3	34,3	35	31
Összesen	2118	2335,8	2654,23	3003,2	3132,1

Forrás: FAOSTAT, 2014

Európában a dió ültetvényfelülete az elmúlt évtizedben folyamatosan nőtt. Az AKI PÁIR (2014) adatai alapján a dió termőterülete 61,4 ezer hektár, a héjastermés 106 ezer tonna a 2015-ös gazdasági évben (október-szeptember). A legnagyobb termelők Franciaország és Románia (2. táblázat). Franciaországban a diótermelés és az export hosszú távon nagy fejlődést mutat. Az átlag diótermelés 37%-kal nőtt az elmúlt 10 évhez viszonyítva (2011-2013 vs 2001-2003), illetve 2013-ban 80%-a a termésnek héjasként exportra ment. Ugyancsak 2013-ban, hasonlóan az előző évekhez képest a termelés 88%-át Európába, főleg Olaszországba (31%), Spanyolországba (27%), illetve Németországba (17%) exportálták. A feldolgozásra kerülő dió 7-10%-át teszi ki az össztermésnek. A legtöbbjét Moldvába exportálják héjasként, majd importálják beldióként. Ebből

a szempontból Moldova az egyik vezető piac az EU-n kívül. A 2014/2015-ös gazdasági évben (a dió esetében szeptemberi és októberi szezonnal) Franciaország 35000 tonnát ért el. Az Európai Közösség meghatározó dióbélexportőre Románia, ahol a termés 14 százalékkal 32 ezer tonnára emelkedett a 2014/2015-ös gazdasági évben.

Olaszország elveszítette piacvezető szerepét már pár évtizede, fontos importőrnek számít, legtöbbet az Egyesült Államokból szerzi be.

Magyarországon a FAO adatai szerint az utóbbi évben 3 ezer tonna körül mozgott a diótermés, amely az elmúlt évek telepítéseinek köszönhetően a későbbi években megduplázódhat.

2. táblázat. Az Európai Unió legfontosabb diótermelő országai (tonna)

Ország	2012/2013. év	2013/2014. év	2014/2015. év
Franciaország	36476	33716	34000
Románia	28300	28000	32000
Spanyolország	16877	12300	14000

Forrás: GAIN REPORT EU-28 Tree Nuts Annual, 2014

A dióültetvényfelület alapján ugyancsak Kína (425.000 ha), Törökország (99.617 ha) és az Amerikai Egyesült Államok (98.980 ha) vannak az első három helyen. Magyarországon az üzemi termőfelület 3577 ha-ról (2002) 4356 ha-ra bővült, 22%-os növekedést érve el 10 év alatt. Románia dióültetvényeinek összterülete pedig 2056 ha-ról (2002) 1433 ha-ra csökkent 2012-re.

A héjas dió és beldió legfontosabb forgalmazója az Amerikai Egyesült Államok, amelyet követi Moldova, Chile és Ukrajna (3. táblázat).

3. táblázat. A dió behozatal származás alapján (tonna) (EU-28)

Származási ország	2010/11. év	2011/12. év	2012/13. év
Egyesült Államok	96836	77162	72127
Moldova	15334	21716	21302
Chile	13400	12944	17694
Ukrajna	12755	15915	17661
India	8619	9118	5358
Kína	5588	4222	3689
Egyebek	3668	3687	4849
ÖSSZBEHOZATAL	156200	144764	142680

Forrás: GAIN REPORT EU-28 Tree Nuts Annual, 2014

Az EU-28 szerint a termesztett dió 2012/13-as évben a vezető célországai Törökország, Svájc és az Egyesült Államok voltak (4. táblázat).

4. táblázat. EU-28 dió kivitel a legfontosabb célországok alapján (tonna)

Célország	2010/11. év	2011/12. év	2012/13. év
Törökország	1933	6005	3752
Svájc	3018	3073	3452
Egyesült Államok	67	416	2369
Moldova	2426	2799	2272
Bosznia-Hercegovina	803	1188	1610
Albánia	526	1254	1139
Egyebek	6838	9322	5164
ÖSSZEKIVITEL	15611	24057	19758

Forrás: GAIN REPORT EU-28 Tree Nuts Annual, 2014

Magyarország héjasdió-kivitele a KSH adatai szerint 2,3 tonnáról 83,1 tonnára emelkedett 2014 első nyolc hónapjában az előző esztendő azonos hónapjaihoz képest. A Lengyeltótiban található közel 200 hektár dióültetvényből származó termés 95 százalékat héjas formában exportálják Németország, Anglia, Svájc, Ausztria és Olaszország felé. Dióbél kivitele 850 tonnáról 1,6 ezer tonnára növekedett 2014-ben, elsősorban az Egyesült Királyság, valamint Németország és Franciaország felé. A tóti dió az amerikai és a francia dió előtt kerül a nemzetközi piacra, mivel a magyar nemesítésű diófajták a legkorábbi érési idővel rendelkeznek az északi féltekén termesztett fajták közül (Bujdosó, 2013).

2.2. A KÖZÖNSÉGES DIÓ (*Juglans regia* L.) SZÁRMAZÁSA ÉS ELTERJEDÉSE

Vavilov (1928, 1931, 1951) szerint a dió géncentruma Közép-Ázsiában található. Őshazája Nyugat-Kína, amely továbbá Xinjiang-Ujgur autonóm tartományától indulva, Kazahsztán egyes részei, Üzbegisztán, Dél-Kirgizisztán, Tádzsikisztán, Nepál hegységeitől, Tibet, Bhután, Myanmar (Burma), Bangladesh, Észak-India és a Nyugati Pakisztánon keresztül Afganisztán, Türkmenisztán, Irán, Azerbajdzsán, Örményország, Grúzia valamint Kelet-Törökország területeire határolódik (McGranahan és Leslie, 2009; Nekrassowa, 1927; Schmucker, 1942; Berg, 1950; Browicz, 1976; Davis, 1982; Puri *et al.*, 1983; Komarov, 1985; Hemery *et al.*, 2005; Aradhya *et al.*, 2010). J alas és Suominen (1976) és Tutin *et al.* (1993) megállapították, hogy a *Juglans regia* L. a Balkán-félszigeten őshonos, különösen Görögország, a volt Jugoszlávia, Románia és Bulgária területein. J alas és Suominen (1976) szerint az Észak-Olaszországban és Ausztriában fellelhető állomány ismeretlen, bizonytalan eredetű. A Balkán területén a dió őshonosságának tényét

Huntley és Birks (1983) az erdőövezettel hozza összefüggésbe. Ezeken a területeken a dió együtt fordul elő olyan fajokkal, melyek őshonos erdőtípusokat alkotnak (*Castanea sativa* Mill., *Platanus orientalis* L. és *Corylus colurna* L.). Pollegioni *et al.* (2014) arról számol be, hogy Dél-Kelet-Európa hegységeiben, a Kárpátok hegyvonulatában a dió szintén őshonos. Szentiványi (1955) úgy fogalmaz, hogy “A dió határozottan őshonos Európa délkeleti részein, ...”. Szilády 1933-ban közölt “Az ősdíófa nálunk és a Balkánon” című munkájában így ír: “Kétségtelen, hogy a díófa a történelmi Magyar Birodalom déli részeiben ma is honos.” Itt jegyzi meg szintén, hogy “Nagyobb díóligetek vannak völgyi vízparti elhelyezésben, Erdélyben. Egyet, a gazdag gyógyi vagy díódíi völgyet Alsó Fehér megyében személyesen ismerem”. Néhány sorral alább így folytatja: „Azt, hogy a díófa nálunk őshonos, a Bánátra vonatkozólag már Heuffel János (1858) följegyzéseiből is megállapíthajuk, mert a fa termőhelyét így írja körül: berkeken és hegyi erdőkben, különösen mésztalajon Tomist, Pestyere, Macsova, Krassó mellett és onnan az egész hegyvonulatban a Dunáig; a Duna környékén Herkulesfürdőig imitt-amott erdőcskéket alkot.”

Az 1934-ben megjelentetett „A Maros melléki díósvölgyek” című munkájában többek között ezt írja: „Minden mellékvölgy torkolatában van egy kisebb-nagyobb díófacsopót, és itt már a törmelékkúp köves talajánál fogva ültetésről nem is lehet szó. Az alvincivel párhuzamos, szintén É. Ny-DK irányú Gáldi-völgyben Boros Benedektől fölfelé haladva hasonló tapasztalatokra jutottam. A vízpartokon és az oldalvölgyek törmelékkúpjain a díófák mindenütt biztosan megtalálhatók. A művelhető területek természetesen kertesítve vannak s így különböző fokozatokban látható, hogyan megy át a díófa eredeti vad állapotából a kerti művelés gondozottságába. (A bekerítettség nem bizonyíték itt a fa ültetett voltára).“

Dornyay (1937) helynevekből, dülő- és településnevekből következtetett a díó őshonosságára Balaton és Salgótarján vidékén. Szilády (1934) szerint „A díós helynevek általában megérdemlik figyelmünket, mert bajos dolog elhinni, hogy egy helyet előre oda ültetett díófákról nevezzenek el. Minden bizorrral a díó volt ott előbb, mint a róla elnevezett falu vagy város.” Azonban az őshonosság nem bizonyítható kétségtelenül a helynév kutatás és az eddig felkutatott néhány természetesnek látszó lelőhely alapján (Szentiványi, 1955). Terpó (1987) szerint a díó magyarországi őshonossága vitatható.

A természetes elterjedését a kontinentális klíma határozta meg. A törökországi Anatólia régiótól, mely a díó nyugati természetes elterjedésének határát jelenti (Barut, 1996), a változatos éghajlati jellemzőkkel rendelkező enyhe, párás Fekete tengerparti régiót át a szubtrópusi parti övezeten keresztül az ország délkeleti széléig, ahol már a kontinentális klíma a meghatározó, meleg száraz nyarakkal és hideg telekkel, a díó mindezen tájegységeken megtalálható. Azonban az őshonos díóállományok kiterjedése Törökország központi, Észak- és Észak-Keleti országrészekre

határolódik (Davis, 1982). Akca és Sen (1994) Gürün városa mellett Közép-Anatóliában, ahol az évi középhőmérséklet $9,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, 1150 és 1250 m tengerszintfeletti magasság között 10000 darabszámot meghaladó populációra bukkantak. A fent megnevezett régiókban elegyes lombhullató erdőkben, többségében tölgyfajokkal (*Quercus* spp.) elegyedve fordult elő (Davis, 1982). A Himalája hegység lombhullató erdeiben *Quercus dilatata* P.M. Kern, *Q. semecarpifolia* Caval-Sm. fajokkal elegyet alkotva nő, Észak-Afganisztán, Pakisztán és Észak-Nyugat India heves nyári csapadék övezte területein. Ugyanakkor Nyugat-Himalája túlevelű és lombhullató vegyes erdeiben *Abies* spp. és *Picea* spp., illetve *Acer caesium* Kosterm. és *Ulmus wallichiana* L. fajok között fordul elő (Puri *et al.* 1983).

Az azonban bizonyos, hogy a termesztésbe vonással a dió nagymértékben tovaterjedt a természetes lelőhelyétől, s fellelhető szinte minden mérsékelt égövi ország területén. Elterjedésének északi határa egybeesik a $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$ izoterma határvonalával (Cociu, 1983).

Az egymástól eltérő klímájú termőhelyein a céltudatosan szelektáló termesztők munkája nyomán több típusa és típusonként igen sok termesztett fajtája alakult ki. Ezek a fajtakörök elsősorban élettani tulajdonságaikban, ökológiai igényeikben különböznek egymástól, míg külső, alaktani tulajdonságaikban kevésbé.

A legnagyobb területen és a legváltozatosabb éghajlati viszonyok között, a diótermesztés elterjedéseinek legészakibb, hidegebb vidékein alakult ki a diónak az ún. kárpáti fajtakörhöz tartozó csoportja. A legnagyobb változatosságú és legjobban alkalmazkodó fajtakör. Jellemzője a nagy téli hidegtűrés (amely $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ fokig is terjedhet), a korábbi fakadási idő, az apomixisra való hajlam. Elterjedése: Ukrajna, Lengyelország, Németország, Magyarország, Románia, Bulgária, Moldávia, Csehország, Szlovákia, Szerbia, Szlovénia, Horvátország, Bosznia-Hercegovina, Montenegró, Macedónia.

A francia fajtakört jó áruérték, mérsékelt téli fagyűrés, kései fakadás és az apomiktikus hajlam hiánya jellemzi. Főleg Dél-Franciaországban terjedt el. A Mandzsúriai fajtakörbe tartozó fajták nagyon télállóak, de a korai fakadás miatt érzékenyek a késő tavaszi fagyokra. A termés nem túl tetszetős és gyenge ízű, de ebből a fajtakörből ered az oldalrügyekből való termésfejlés képessége. A Perzsa fajtakör fajtái kiváló termőképességűek, de nagyon gyenge a télállóságuk. A kaliforniai fajtakör a francia, a mandzsúriai és a perzsa fajtakör fájának meghonosítása után, azok természetes és mesterséges hibridizációjából alakult ki. Fő jellemzőjük a nagy termőképesség, a kiváló minőség és a gyenge télállóság (Szentiványi, 1976).

2.3. A DIÓNEMESÍTÉS TÖRTÉNETI ÁTTEKINTÉSE

A dió esetében, összehasonlítva más gyümölcsfajokkal, a nemesítésre irányuló kutatási programok viszonylag nemrég kezdődtek, bár valószínű, hogy fogyasztás és termesztés céljából már régen is a legértékesebb genotípusokat választották ki (McGranahan és Leslie, 2012). A legrégebbi diónemesítési programot Gene Serr és Harold Forde (Tulecke és McGranahan, 1994) 1948-ban kezdte meg a Kaliforniai Davis Egyetemen, mely során céljuk a minél magasabb terméshozam, az oldalrügyeken való terméshozás, a kései fakadási idő, a kedvező magbélarány voltak (McGranahan és Leslie, 2012). Elsődleges célként a francia fajták jó termésminőségi és kései rügyfakadási tulajdonságait kívánták kombinálni a 'Payne' oldalrügyön való termőképességével és koraiságával. A hibridizáció után 6000 magoncot értékelték, melyből 10 hibrid fajtát 1968-ban, míg további hármat 1978-ban vettek fel az állami fajtalistára. Ezek közül a legjelentősebbek 'Vina', a 'Serr', a 'Howard' és a 'Chandler', majd újabb három fajtára ('Sexton', 'Gillet' és 'Forde') szereztek fajtaoltalmat (McGranahan és Leslie, 2012).

Európa jelentős diótermesztéssel rendelkező országaiban csak jóval később kezdték el a hibridizációs nemesítést. Ezen országok közül a szakirodalmi adatok, a kutatási beszámolók alapján, Magyarországon végeztek legkorábban (1971-ben) keresztezéses nemesítést. Ezt megelőzően az 1910-es években volt első próbálkozás a céltudatos fajtahasználat megalapozására. Állami akció keretében Rudnai Molnár István miniszteri biztos irányításával Franciaországból nagy mennyiségű vetőmagot importáltak, s az abból nevelt magoncokat elterjesztették az ország különböző termesztőtájjain. A francia diórasszból származó populáció azonban nem tudott alkalmazkodni az idegen ökológiai körülményekhez, így a fák nagy része elpusztult (Szentiványi, 1997; Bujdosó, 2002; Szentiványi és Kállay T-né, 2006).

1950-től a NAIK Gyümölcsstermesztési Kutatóintézet - Érdi Kutató Állomás jogelőd intézményében, a Kertészeti Kutató Intézet Gyümölcsstermesztési Főosztályán Dr. Szentiványi Péter irányításával megindult az ország diópopulációjának vizsgálata tájszelekciós módszerrel (Szentiványi, 1997; G. Tóth, 2001; Szentiványi és Kállay T-né, 2006). A szelekciós munka során 14 fajtajelölt került kiválasztásra, melyek közül három fajta ('Alsószentiváni 117', 'Milotai 10', 'Tiszacsécsi 83') bizonyult kiemelkedően értékesnek (Szentiványi, 1997).

Az 1960-as évek végétől a főbb diótermesztő államok fajtáinak honosításával próbálták a fajtaválasztékot bővíteni. Az adaptációs kísérletek eredményei alapján a kaliforniai származású 'Pedro' bizonyult alkalmasnak. Később, a termesztése során gyenge alkalmazkodó képességet mutatott a télállóság és a termés áruérték szempontjából. Az 1971-ben indított keresztezéses nemesítési program során a három alapfajtahez a 'Pedro' fajtát apai szülőként használta Szentiványi Péter (Bujdosó, 2002). Az utódnemzedék közel egyharmadában jelenik meg az apai

szülő oldalrügyeken való nagyarányú terméshozása, jó termésszerkezete, későbbi fakadási ideje (Szentiványi, 1990).

A keresztezéses nemesítés eredményeként hat próbatermesztésre ajánlható fajtát választottak ki. Ezek közül az M-10-25 kivételével az Országos Fajtaminősítő Bizottság 2002-től, illetve 2005-től államilag minősített fajtának fogadta el a következőket: 'Alsószentiváni kései', 'Bonifác', 'Milotai kései', 'Milotai bőtermő' és 'Milotai intenzív' (1. melléklet). Ezek termesztésbe vonásával már négy hetes érési időszak fődhető le (Bujdosó, 2002).

A magyarországi keresztezéses nemesítési programot követően Franciaországban 1977-ben kezdtek hasonló fajtanemesítésbe Eric Germain vezetésével a Bordeaux melletti Grand Ferrade Kutató Állomáson, amelynek célja ugyancsak az oldalrügyeken termő, kései fakadási idővel rendelkező, xantomonaszrezisztens fajták előállítás volt (Germain, 1986). Az első keresztezések alkalmával a 'Franquette' x 'Payne', majd a későbbiek során a 'Marbot', 'Grandjean', 'Grosvert-Verdot' és 'Adams 10' fajtákat anyai, míg a 'Serr', 'Chico', 'Lara', 'Pedro' fajtákat apai szülőként alkalmazta. Végül a termésminőség szempontjából a 'Chandler' fajta bizonyult a legjobbnak. A program eredményeként 'Fernette' és 'Fernor' fajták jöttek létre (Germain, 1997).

Romániában a diónemesítési tevékenység két időszakra osztható. Az első időszak 1958-as évben vette kezdetét Dél-Nyugat Erdélyben, az Algyógy-i Gyümölcsstermesztési Kutató Állomáson N. Meza és V. Cociu irányításával, majd később csatlakozott e tevékenységhez a Pitești-i Gyümölcsstermesztő Kutató Intézet, valamint a Tg- Jiu-i és a Râmnicu Vâlcea-i Gyümölcsstermesztési Kutató Állomás (Cosmulescu *et al.*, 2010). A kutatási tevékenység során állami elismerést kapott 21 diófajta, továbbá kidolgozták az oltványkészítés technológiáját, belekezdtek a termesztéstechnológia korszerűsítésébe, mindezeket a diótermesztés intenzívizálásának érdekében (Deaconu *et al.*, 2007). Az államilag minősített és telepítésre javasolható diófajták az 5. táblázatban láthatók.

5. táblázat. Államilag minősített diófajták Romániában, a minősítés szerinti sorrendben

Sorszám	Fajta	Állami elismerés éve	Fajtaelőállítás módszere
1	Sibişel precoce	1975	tájszelekció
2	Geoagiu 65	1979	tájszelekció
3	Sibisel 44	1979	tájszelekció
4	Germisara	1979	keresztezés
5	Orăştie	1979	keresztezés
6	Novaci	1979	tájszelekció
7	Şuşiţa	1979	tájszelekció

Sorszám	Fajta	Állami elismerés éve	Fajtaelőállítás módszere
8	Peştişani	1979	tájszelekció
9	Victoria	1979	tájszelekció
10.	Jupâneşti	1984	tájszelekció
11	Bratia	1984	tájszelekció
12	Sarmis	1985	tájszelekció
13	Roxana	1991	tájszelekció
14	Mihaela	1991	tájszelekció
15	Muscelean	1992	tájszelekció
16	Argeşean	1992	tájszelekció
17	Velniţa	1995	tájszelekció
18	Miroslava	1995	tájszelekció
19	Valcor	1999	tájszelekció
20	Valrex	1999	tájszelekció
21	Valmit	2000	tájszelekció

Forrás: Deaconu *et al.*, 2007; Botu, 1994

Az 1975-ben kezdődő második időszak ugyancsak az Algyógy-i Gyümölcsstermesztési Kutató Állomáshoz kötődik, amikor I. Deaconu vezetésével magasabb termőképességű és késői fakadási idővel rendelkező fajták előállítására irányult a tevékenység. Ennek céljából anyaszülöként a legértékesebb szelekciókat és hibrideket, apaszülöként amerikai és francia bőtermő fajtákat használtak fel, mint a ‘Payne’, ‘Harthley’, ‘Eureka’, ‘Serr’, ‘Pedro’, ‘Mayette’, valamint az Algyógy-i Gyümölcsstermesztési Kutató Állomáson keresztezéses nemesítéssel előállított nagy termőképességgel rendelkező hibrideket alkalmaztak, mint amilyen a ‘Geoagiu 4-21’, ‘Geoagiu 4x44-430’, ‘Geoagiu 44x4-265’. A keresztezések során 22 kombinációnál 42617 nővirágot izoláltak és poroztak meg, amelyből 8278 hibrid termés és 2733 magonc keletkezett. A szelekciók alkalmával kiselejtezték azokat az egyedeket, amelyek fogékonyságot mutattak a dió baktériumos és gnomóniás betegségére, valamint gyenge termésminőséggel rendelkeztek, így maradt 1252 hibrid, amelyek különböző értékelési stádiumban vannak, többségük már termőre fordult (Deaconu *et al.*, 2007). Korábbi (1960-1973) keresztezésekből származó hibrdek kiértékelése során 15-20 szelekció állami elismerés előtt tart.

Továbbra is fontos nemesítési génforrás marad a fajtaválaszték előállításához a spontán és félszontán dióállomány (Cociu *et al.*, 1999; Deaconu *et al.*, 2007).

Az 1983-ban kezdődő Iráni nemesítési program célja új, értékes fajták előállítása volt az őshonos génforrás feltérképezése révén (Hassani *et al.*, 2014). A kutatás a kiválasztott genotípusok értékelésével folytatódott, mely eredményeként 1994-ben hét szelekciót emeltek ki (Aslamraz *et al.*, 2009; Dastjerdi *et al.*, 2009; Dastjerdi és Hassani, 2009; Golzari *et al.*, 2010, 2012; Hassani *et*

al., 2007, 2013; Silsepur *et al.*, 2010), valamint kidolgozták a dió szaporítási módszerét (Dehghan *et al.*, 2010a,b; Pirkhezri *et al.*, 2010; Soleimani *et al.*, 2009; Soleimani *et al.*, 2010). A nemesítés eredményeként 2010-ben két első iráni diófajta ('Jamal' (fő fajta) és 'Damavand' (pollenadó fajta)) szerezte meg az állami minősítést (Hassani *et al.*, 2012a,b).

A legintenzívebb kutatás és nemesítés Közép-Ázsiában, Üzbegisztán, Kirgizisztán és Tádzsikisztánban történt (Molnar *et al.*, 2011). Rikhter és Yadrov (1985) szerint szelekciós eljárással 350 darab közép-ázsiai diófajtát nemesítettek (Molnar *et al.*, 2011). A kirgizisztáni Erdészeti Intézet több mint 300 fajtából álló állománnyal rendelkezik. (Szcepotiev, 1985). Üzbékisztánban, a Schroeder Intézet ugyancsak széles skálájú génforrással rendelkezik a Tashkent-i és a Samarkand-i tartományok fiókinvézeteinél (Mirzaev *et al.*, 2004). A Tashkent-i fiókinvézetnél Dr. S. S. Kalmykov végezte a legjelentősebb diónemesítést (Molnar *et al.*, 2011). Munkája során elsőként azokat a változatokat emelte ki, melyek áruértéke és ellenálló-képessége megfelelő volt. Példaként említi a termések tömegében (2,5-20 g) és a magbélarányban (28-66%) mutakozó nagyfokú variabilitását. Ugyancsak a tádzsikisztáni diónemesítők több mint 20 fajtát nemesítettek, a legfontosabbak között megemlíthető a 'Tadjikskiy 25', 'Gissarskiy 7', 'Muminobadskiy 38', 'Muminobadskiy 55' (Kholdorov, 1990).

Az őshonos diópopuláció genetikai változatossága számos lehetőséget biztosít a nemesítés terén Törökországban is (Sharma és Sharma, 2001; Orel *et al.*, 2003; Zeneli *et al.*, 2005). Anatólia számos földrajzi régiójával a dió diverzitásának legfontosabb központját jelenti. A folyamatos magról szaporítás nagy mennyiségű magoncpopulációt eredményezett saját értékes génforrások kiemeléséhez (Bayram, 2012). Számos szelekciós tevékenység zajlott Törökországban. Az első szelekciókat a Marmara régióban (Ölez, 1971) és Északkelet-Anatóliában, illetve a Fekete tenger keleti részein végezték (Şen, 1980). Ezekből a kutatásokból a legkiválóbb genotípusok kerültek ki, figyelembe véve a termőfa és a termés jellemzőit (Şen és Tekintaş, 1992; Beyhan, 1993; Aşkin és Gün, 1995; Yarılgac, 1997; Küden *et al.*, 1997; Sütyemez és Eti, 2001; Akça és Ozongun, 2004; Aslantaş, 2006).

Jelentős dió genotípusok találhatók továbbá Indiában (Sharma és Sharma, 1998; Sharma és Sharma, 2001) és Szlovéniában (Solar és Stampar, 2005; Zeneli *et al.*, 2005; Colaric *et al.*, 2006).

2.4. A DIÓFAJTÁK ÁRUÉRTÉKE

A legtöbb diótermesztő országban a saját éghajlati adottságaikhoz jól alkalmazkodó fajtákat termesztik. A fajták kiválasztásánál a legjobb áruértékkel rendelkező fajtákat részesítik előnyben (Bujdosó, 2004).

Az áruérték fogalma valamennyi gyümölcsfaj esetében összetett, több tulajdonság méréséből származó értékekkel jellemezhető. Ezen értékek egy részét fizikai mérésekkel, másik részét pedig érzékszerveinkkel tudjuk minősíteni. A dió esetében fizikai úton, különböző mérőeszközök segítségével a termés méretét, tömegét, az endocarpium vastagságát és a magbél tömegét tudjuk mérni. Érzékszerveinkkel minősítjük a terméshéj alakját, színét és felületét, a dióbél színét, teltségét és ízét (Bujdosó, 2008). Természetesen ez utóbbi vizsgálatok eredményei a szubjektív megítélés alapján eltérőek lehetnek. Viszont, ha évente többször bizonyos módszereket betartva végezzük el a vizsgálatokat, és az érzékszervi bírálatokra szakembereket kérünk fel, az eltérés mértéke csökkenthető (Bujdosó, 2006).

A termés alakjának tulajdonságait általában inkább a tetszetősség (piacosság) és a manipulálhatóság szempontjából vizsgálják. Az értékelést leginkább a tetszetős dióhéj, alak és a fedőszín hatása befolyásolja, holott a héjas dióban az értéket kizárólag a belőle kinyerhető bél képviseli. A termés mérete és alakja áruérték és válogatás, csomagolás és szállítás szempontjából igen fontos (Van Eck *et al.*, 1998; Sadrnia *et al.*, 2007; Wycislo *et al.*, 2008; Keramat Jahromi *et al.*, 2008; Kiliçkan és Güner, 2008). Szükséges ismerni a héjas termés és magbél morfológiáját és a méret eloszlását a tisztító és osztályozó gépsorok pontos megtervezése érdekében (Ebrahimi *et al.*, 2009).

A héjas dió alakját két tényező alapján vizsgálhatjuk. Az egyik a termés hosszúsága, a másik a szabályossága. A termés hosszúságának mértéke átmérőjének és megnyúltságának arányától függ. A termés alakjának szabályosságát a szélességi és vastagsági méretarányai határozzák meg.

Gazdasági szempontok alapján a gömbölyű vagy az azt megközelítő alak a legkedvezőbb, mert az ilyen dió szállítása, manipulációja és a feldolgozása is sokkal könnyebb, mint a megnyúlt alakú termésé, valamint tetszetősebb is. A héjfelület elsősorban a tetszetősség szempontjából jelentős, azonban a barázdált és annál erősebben tagolt héjfelületű diók esetében további hátrány, hogy a zöld buroktól nehezebben válnak el. A terméshéj felülete legszebb, ha finoman erezett (a terméshéj sekélyen erezett, a karima mellett nincsenek gödrök), de megkülönböztetünk még rajzoltos (az alapi résztől néhány barázda indul, s ezek az oldalakon rajzolatokba, erek nyomaiba mennek át, a karimáknál kevés gödör található), barázdált (több közép mély barázda húzódik az oldalakon), dudoros (a közép mély barázdák mellett kis gödrök és kiemelkedések találhatóak) és rücskös (a barázdák rendkívül mélyek és a nagy dudorokon még kisebbek is vannak) felületű terméshéjat (Szentiványi, 1976).

A terméshéj színe a szalmasárgától egészen a sötétbarnáig terjedhet. A terméshéj hosszúsága és szélessége önmagában nem ad jellemző adatot, ezt a térfogat mutatja helyesen. A hosszúság, ami a csúcs és az alap közt mérhető legnagyobb távolság 29-44 mm-ig terjedhet. A termés szélessége, a termés középtáján, a karimákon mérhető legnagyobb távolság, 26–36 mm között változhat. A

csúcs hosszúságának a manipulációnál van jelentősége. Ennek nagysága 0-2,5 mm-ig terjedhet. A kétoldalt hosszában szabályosan körülfutó, többé-kevésbé kidomborodó varrat karimát alkot. A karima szélessége és magassága elsősorban a tetszetőséget ronthatja, jelenléte a terméshéj szilárdságát és zártságát növeli (Szentiványi, 2006a).

A héjasdió esetében az első osztályú méretkategória alsó határát a 32 mm-nél nagyobb termésátmérő jelenti (Bujdosó, 2006). Továbbá fontos az egyenletes átmérő, a világos, de lehetőleg nem mesterségesen fehéritett héjszín, a szép alak és a rajzolat (G. Tóth, 2004). Az Európai Unióban a héjas dióra vonatkozó minőségi elvárásokat a 175/2001/EK számú rendelet szabályozza, melyet megjelenése óta eddig háromszor módosították, 46/2003/EK, 80/2003/EK és 90/2004/EK számok alatt. A méretre vonatkozó követelményeket az alábbiak szerint határozták meg (6. táblázat).

6. táblázat. A termés átmérőjére vonatkozó előírások

A méretet vagy a minimális és maximális átmérő közti intervallumként határozzák meg (méretezés), vagy a minimális átmérő után „és e fölött” vagy „+” feltüntetésével (szűrés).

Osztály	Méretezés ^(a)	Szűrés ^(a)
Extra, I. és II.		34 mm és e fölött
	32–34 mm	32 mm és e fölött
	30–32 mm	30 mm és e fölött
	28–30 mm	28 mm és e fölött
I. és II.	26–28 mm	26 mm és e fölött
II.	24–26 mm	24 mm és e fölött

^(a)E méretezési és szűrés táblázat mellett bármely más méretelnevezést is lehet választani, feltéve hogy a méret a jelölésen is fel van tüntetve.

Forrás: Az Európai Közösségek Bizottságának 175/2001/EK rendelete (2001. január 26.) a héjas dióra vonatkozó minőségi előírások megállapításáról

A termésméret tekintetében nincsenek szigorú előírások. Kedvezőnek tekinthető, ha a szárított héjas termés tömege 12–13 g feletti. Azonban a különböző dióváltozatok esetében 5–19 g közötti lehet. A nagyobb tömeggel rendelkező dió általában értékesebb. Noha a tömegnövekedést a héjvastagság és a bétartalom egyenlő arányban adja, azonban a szüret utáni kezelés során az arány a bél javára változik (mert a terméshéj párologtatja el mind a saját, mind a bél fölös víztartalmát), s csak teljes kiszáradáskor áll helyre a helyes, fajtára jellemző arány (Szentiványi, 1976).

Fontos a termés héjának vastagsága, keménysége és a varrat zártsága is, mert e tulajdonságai határozzák meg a törhetőséget (Szentiványi, 1976; Bujdosó, 2006; 2007; 2008). Ez a tulajdonság

arra utal, hogy a fajta milyen arányban ad a tisztítás során töretlen, ép belet, illetve a fél bél, egész gerezdek, kisebb béldarabok milyen százalékos arányban nyerhetők ki a héjas dióból (Szentiványi, 1976).

A terméshéj (*endocarpium*) vastagságának a bélarány, törhetőség és szállíthatóság szempontjából van jelentősége, nagysága 0,4-2,4 mm közé tehető. Minőségét tekintve Szentiványi (2006b) szerint lehet puha, lágy, félkemény, kemény vagy kőkemény. Kívánatos a vékony, de kemény csonthéj, amely ütésre roppanva reped és így a belet nem sérti.

A héjas diónak, mint árunak egyik legfontosabb tulajdonsága a béltartalma, amit a bél tömegének az egész dió tömegéhez viszonyított százalékaiban (belsőszázalékban) fejezünk ki. A jó minőségű fajták héjas termése legalább 44% béltartalmú. Noha a héjas diónak, mint árunak a legfontosabb értékmérő tulajdonsága a belsőszázalék, egy diófajta termesztésre való kiválasztásakor mégis célszerű ezt a szempontot úgy módosítani, hogy termelékenyebb az a fajta, amelyik területegységre számítva magasabb bélhozamú. Ez az értékelés a belsőszázalékon túl a fajta termőképességét és termésbiztonságát is figyelembe veszi (Szentiványi, 1976).

2.5. A DIÓ ELLENÁLLÓSÁGA A BAKTÉRIUMOS FOLTOSÁG KÓROKOZÓJÁVAL (*Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*) SZEMBEN

A dió esetében eddig még nem találtak a baktériummal (*Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*) szemben rezisztens fajtákat. Csupán fogékonyságbeli különbségeket állapítottak meg azonos pedoklimatikus viszonyok között elvégzett felmérések, vizsgálatok alapján. A 7. táblázat a különböző országokban folytatott ellenálló genotípusok/fajták felmérése érdekében végzett kutatásokat mutatja be.

7. táblázat. A dió xantomonaszos betegségekre való fogékonyságának vizsgálati eredményei szabadföldi és laboratóriumi kísérletek esetében különböző országokból

Fogékonyság mértéke			Helység	Vizsgálati körülmények	Forrás
Alacsony	Közepes	Magas			
Yunxin 90303			Kunming, Yunnan (Kína)	Szabadföldi vizsgálat	Zhao <i>et al.</i> , 2007
Yunxin Gaoyuan			Kunming, Yunnan (Kína)	Szabadföldi vizsgálat	Xi <i>et al.</i> , 2007
Jinboxiang 3			Taigu, Shanxi (Kína)	Szabadföldi vizsgálat	Tian <i>et al.</i> , 2008
Luguo 4			Tai'an, Shandong (Kína)	Szabadföldi vizsgálat	Zhang <i>et al.</i> , 2009
MBLu-20 MBLu-21			Galicia (Spanyolország)	Szabadföldi vizsgálat	Aleta <i>et al.</i> , 2001

Fogékonyság mértéke			Helység	Vizsgálati körülmények	Forrás
Alacsony	Közepes	Magas			
MBC-45					
		15 évnél idősebb magoncok termőfák	Cantabria (Spanyolország)	28 darab <i>Xaj</i> tünetmentes szabadföldön, laboratóriumi körülmények között mind fogékonyak voltak	Arrieta és Diaz, 2007; Lopez <i>et al.</i> , 2007
Hartley	Chandler Howard	Chico Vina	Cordoba (Spanyolország)	Szabadföldi vizsgálat	Lovera <i>et al.</i> (2008)
Nugget Trinta De Arriba Badajoz Eureka		Alcalde 4 Franquette Chico Payne Sendra 23 B-1	Murcia (Spanyolország)	Szabadföldi vizsgálat	Ruiz-Garcia <i>et al.</i> (2009)
Trinta	Amigo	MB-T-40	Barcelona (Spanyolország)	Mesterséges fertőzés	Rovira <i>et al.</i> (2007)
Néhány genotípus <i>Xaj</i> toleráns			Oltenia (Románia)	Szabadföldi vizsgálat	Botu <i>et al.</i> , 2001
	Valcor, Valmit, Valrex		Vâlcea (Románia)	Szabadföldi vizsgálat	Botu <i>et al.</i> , 2007
Portval (syn.VL26B)			Vâlcea (Románia)	Szabadföldi vizsgálat	Achim <i>et al.</i> , 2007
Néhány genotípus <i>Xaj</i> toleráns			Kelet-Erdély (Románia)	Szabadföldi vizsgálat	Thiesz <i>et al.</i> , 2007
Alsószentiváni 117 Alsószentiváni kései Milotai bőtermő Alsószentiváni 118 Bonifác Pedro Hartley	Milotai 10 Milotai kései M-10-25 Milotai intenzív		Pölöske (Magyarország)	Szabadföldi vizsgálat	Szani, 2009
Bonifác SZEN-10			Budapest (Magyarország)	Mesterséges fertőzés	Bandi <i>et al.</i> , 2010
Z-62, Krnc Z-60 Franquette Fernor Fernette Erjvec	Elit Hartley Cisco	Sampion Seiferdorfski	Ljubliana (Szlovénia)	Mesterséges fertőzés	Solar <i>et al.</i> (2006a, 2008, 2009)
Franquette Serr Illiana Grand Jean Sel. EH28 Sel. EK 1		Sebin Bursa 95	Larissa (Görögország)	Mesterséges fertőzés	Tsiantos <i>et al.</i> (2008)
19 genotípus			Törökország	Szabadföldi vizsgálat	Akca és Ozongun, 2004

Fogékonyság mértéke			Helység	Vizsgálati körülmények	Forrás
Alacsony	Közepes	Magas			
Franquette Sen 2, C440, 77 H-1, Kaplan 86, Tokat 1, Kaman 1 Bilecik	Yalova 1 Yalova 2 Yalova 3 Yalova 4	Sebin Bursa 95	Izmir (Törökország)	Mesterséges fertőzés	Özaktan <i>et al.</i> (2007, 2008b)
Ex situ gyűjtemény (mind <i>Xaj</i> fogékony)			Pignataro, Maggiore, Caserta (Olaszország)	Szabadföldi vizsgálat	Piccirillo, 2003 Piccirillo és Petriccione, 2006

Spanyolországban Lovera *et al.* (2008) a fajták fogékonyságát vizsgálva a ‘Chico’ és ‘Vina’ esetében magas fertőzöttséget állapítottak meg, míg a ‘Chandler’ és ‘Howard’ alacsony fogékonyságot mutatott. Továbbá a ‘Hartley’ levélfertőzöttsége alacsony volt, míg a termésburok jóval nagyobb fertőzöttséget adott. Egy másik spanyolországi fajtagyűjteményben a ‘Nugget’, ‘Trinta’, ‘De Arriba’, ‘Badajoz’ és ‘Eureka’ fertőzöttsége ugyancsak alacsony volt, szemben az ‘Alcalde 4’, ‘Franquette’, ‘Chico’, ‘Payne’ és ‘Sendra’ fajtákkal, melyek erősen fertőződtek. Az adott körülmények között nem találtak ok-okozati összefüggést a szülőpárok és az utódnemzedék fertőzöttségének mértéke között (Ruiz-García *et al.*, 2009). Egy másik Dél-Nyugat Franciaországban végzett szabadföldi felmérés szerint (Dirlewanger, 2010) az 1444 utód, melyek 15 szülő és 22 kombinációból származtak, esetében különböző mértékű fogékonyságot figyeltek meg. A kései rügyfakadású fajták alacsonyabb mértékű fogékonysággal rendelkeztek. Laboratóriumi körülmények között elvégzett mesterséges fertőzésekkel számos esetben vizsgálták a diófajták fogékonyságát. Szlovéniában a Ljubliana Egyetemen Solar *et al.* (2008, 2009) a ‘Franquette’, ‘Erjavec’, ‘Fernette’ és ‘Fernor’ esetében alacsony fogékonyságot talált, míg az ‘Elit’, ‘Cisco’ és a ‘Hartley’ mérsékelten fogékonnak bizonyultak, valamint a ‘Seiferdorfski’ és a ‘Sampion’ nagyon fogékony volt. Hasonlóan Törökországban az Izmir egyetemen Özaktan *et al.*, (2008a, 2008b) éretlen diótermések mesterséges fertőzésével a ‘Sebin’ és a ‘Bursa 95’ nagyon fogékonnak, a ‘Franquette’ kevésbé fogékonnak bizonyult, míg a ‘Yalova 1, 2, 3 és 4’ esetében közepes fogékonyságot állapítottak meg. Görögországban Tsiantos *et al.* (2008) mesterséges fertőzéssel 33 fajtát (köztük a ‘Milotai 10’-et), 12 szelekciót és 13 hibridet vizsgált. Az inokulációhoz négy *Xaj* törzset alkalmazott keverékben $1,2 \times 10^7$ CFU/ml koncentrációban. Két hetes inkubációs időszak után a fajták fertőződési adatai alapján öt fogékonysági csoportot alakítottak ki. E szerint az A csoportba (alacsony fogékonyság) az ‘Amigo’, ‘Fernette’, ‘Sunland’, ‘Tehama’, ‘Eliane’, ‘Eoli’, ‘Chase D9’, ‘Franquette’, ‘Hartley’, ‘Marbot’, ‘Spurgeon’, EK 1, FM16 és RZ14; a B csoportba ‘Ashley’, ‘Chandler’, ‘Fernor’, ‘Midland’, ‘Payne’, ‘Vina’, ‘Chase 12’, ‘Grand Jean’, ‘Lozeronne’ és ‘Sibisel; a C csoportba ‘Adams’, ‘Gustine’, ‘Serr’,

‘Geisenheim’, ‘Grosvert’, EP5, EP6, EM36, S1/7, S2/6, S3/1, S3/4, S3/8 és F x G7; valamint a D csoportba a ‘Meylannaise’, ‘Milotai 10’ és ‘Ronde de Montignac’, illetve S 3/1 sorolódott. Nagyon fogékony fajtát (E csoport) nem találtak.

Spanyolországban a Mezőgazdasági és Élelmiszeripari Kutató- és Fejlesztő Intézetben szabadföldi felvételezések alapján a vizsgált 25 genotípus nem mutatott xantomonaszos betegség tünetet (Arrieta és Díaz, 2007). A diótípusokat kézbenoltással leszorították, majd júniusban, növényházban mesterségesen fertőzték két helyi izolálású *Xaj* törzs 10^3 és 10^6 CFU/ml koncentrációjú keverékével. Fajtánként 10-10 levelet fertőztek a levélfelület bepermetezésével és bekenésével, majd az oltványokat külön átlátszó polietilén zacskóval takarták. Kontrollként az ‘Amigo’ fajtát használták és desztillált vizes kezelést alkalmaztak. Ezután 30 napra fényszobába helyezték a növényeket, folyamatosan 25-26 °C-ot és 90%-os relatív páratartalmat biztosítva. A fajták fogékonyságát 1-4-es skálán bonitálták. A két fertőzési mód között nem találtak szignifikáns különbséget. A szelekciók egyike sem bizonyult rezisztensnek, viszont szignifikánsan különböztek a fogékonyságuk mértékében az As1, As17 és As24 szelekciók alacsony fertőzöttséggel rendelkeztek (López *et al.*, 2007).

2.6. A FENOLVEGYÜLETEK SZEREPE A DIÓ VÉDEKEZÉSI MECHANIZMUSÁBAN

Számos kutatás foglalkozott a közönséges dió különböző részeiben fellelhető fenollokkal, elemezve a hajtások (Cosmulescu és Trandafir, 2011a; Solar *et al.*, 2006a) a levelek és a zöldburok (Cosmulescu és Trandafir, 2011b; Jakopic *et al.*, 2007; Stampar *et al.*, 2006; Cosmulescu és Trandafir, 2012), valamint a magbél (Bujdosó *et al.*, 2014) fenolvegyületeit.

A fenolos vegyületek a biológiailag aktív nem tápanyagok heterogén csoportjába tartozik (Shahidi és Naczk, 1995). Részt vesznek a gyümölcsfák növekedésének és fejlődésének fiziológiai folyamataiban, illetve befolyásolják a gyümölcs betakarítás előtti és utáni különböző aspektusait (Usenik *et al.*, 2004). A fenolok egyik fontos funkciója a növények védekezési mechanizmusának befolyásolása (Britton, 1983; Bennet és Wallsgrove, 1994; Dixon és Paiva, 1995; Treutter, 2001). A dió termése gazdag fenol anyagokban (Prasad, 2003). A termésben 37 darab fenolt mutattak ki (Fukuda *et al.*, 2006; Stampar *et al.*, 2006), 13 fenolt azonosítottak magában a zöldburokban: klorogénsav, kávéssav, ferulasav, szinapinsav, galluszsav, ellágsav, protokatekin, sziringasav, vanillinsav, (+)-katekin, (-)-epikatekin, miricetin és juglon. A juglon (5-hidroxi-1,4-naphthoquinone) a *Juglans* spp. jellemző összetevőjét alkotja, ami az éretlen termés zöldburkában található meg a legnagyobb mennyiségben, de jelen van szinte minden részében a termőfáknak (Bruneton, 1993; Wichtl és Anton, 1999; Gîrzu *et al.*, 1998; Solar *et al.*, 2006a).

A fenolvegyületek tartalma nagymértékben függ a környezeti feltételektől és az adott fajtától (Amaral *et al.*, 2008). Bujdosó *et al.* (2014) nyolc Magyarországon nemesített fajta és két fajtajelölt, valamint öt külföldi származású fajta tíz fenolvegyületét mérte a magbélben. Arra a következtetésre jutott, hogy a magyar nemesítésű fajták magasabb fenoltartalommal rendelkeznek, mint a vizsgálatba vont külföldiek. A fenolvegyületek közül a vanillinsav volt jelen a legnagyobb mennyiségben, ezt követve a (+)-katekin, pirokatekin, (-)-epikatekin, rutin, sziringasav, galluszsav, juglon és fahéjsav. A külföldi fajták közül magasfenoltartalmat mértek a szerb 'Srem' és 'Sampion' fajtáknál.

A fenolok koncentrációja nagyban függ továbbá a dió fejlődési stádiumától (Solar *et al.*, 2006a). Figyelembe véve a fenoltartalmat és a vizsgálat időszakát, a legmagasabb fenol tartalmat májusi és júliusi hónapokban mérték (Amaral *et al.*, 2004). A dió zöldburokban található legmagasabb juglontartalmat Stampar *et al.* (2006) június 21.-én mutatott ki (1404 mg/100 g). Oliveira *et al.* (2008) kutatása során az összes polifenol-tartalom 32,61 (Mellanaise fajta) és 74,08 mg/g ('Franquette') galluszsavra vonatkoztatott értékek között szerepelt.

Jakopic *et al.* (2009) megállapították, hogy a fenolvegyületek kivonása függ a használt oldószer típusától is. A fenolvegyületek kivonásában használt oldószerek a víz, etanol vizes keverékei, metanol és aceton (Sun és Ho, 2005). Jakopic *et al.* (2009) kutatása során az 'Elit' és 'Franquette' fajták termésének összes polifenol-tartalmát spektrofotométerrel, míg az egyéni fenolvegyületeket HPLC módszerrel mérték. Megállapították, hogy az összfenol magasabb értéket mutatott metanol oldószer használatakor, mint az etanol oldószer alkalmazásakor, mind a két fajta esetében. Ugyancsak metanol alkalmazásakor mérték nagyobb értéket a juglon, (+)-katekin, galluszsav, protokatekin és klorogénsav vegyületeknél. Etanol használata során pedig az ellágsav és a szinapinsavmutatott nagyobb értékeket.

Néhány fenolvegyület védelmet biztosít a dió bakteriális és gombás fertőzéseivel szemben (Mikulic-Petkovsek *et al.*, 2011). Chevallier *et al.* (2009) szerint a flavonok és a hidroxifahéjsav a különböző diófajták xantomonasszal szembeni fogékonyságának és toleranciájának a felelős vegyületeit képezik.

Matias *et al.* (2009) megállapították, hogy a fajták közül a 'Franquette' alacsony mennyiségű galluszsavat, vanillinsavat és juglont tartalmazott, mint a 'Hartley', mégis a bakteriális foltosság tünetei szignifikánsan erőteljesebbek voltak az utóbbi fajta esetében. Másfelől viszont, nem létezik összefüggés a Fernet, Erjavec, Cisco, Zdole, Seiferdorfski és Sampion fajták esetében a mesterséges fertőzés eredménye és a szabadföldi természetes fertőződés intenzitása között, bár mind a természetes, mind a mesterséges fertőzés után kimutatható volt a különböző fenolos vegyületek halmozódása (Frutos, 2010).

Garcin és Duchesne (2001) szerint a dió védelmi mechanizmusában a juglonok és azok glükozidjai vesznek részt, amelyek indukálódnak akkor is mikor még alacsony a xantomonasz fertőzöttség. A fenolos vegyületek mérgezők a kórokozók számára, és sokan közülük, mint például a flavanolok és hidroxisavak passzív vagy indukálható akadályként szerepelhetnek a kórokozókkal szemben. A kórokozó támadására válaszként a polifenolok tartalma és összetétele változhat, így aktív szerepet játszik a kórokozókkal szembeni indukált rezisztenciában (Treutter és Feucht, 1990; Treutter, 2005). A fenolos vegyületek jelenléte is segíthet a genetikailag rezisztens fajták meghatározásában egy bizonyos kártevő és/vagy betegség esetében. Ahogy Michalek *et al.* (1999) feltételezték a rezisztens fajták rezisztens génjei szabályozó génekként szerepelnek a fenol szintézisében. A rezisztens fajtáknál felhalmozott fenolok jelenthetik a kórokozó elleni hatékony ellenőrzést (Frutos, 2010).

A dió zöldburokban található fenoltartalom jelentősen csökken az érés során (Solar *et al.* 2006b; Amaral *et al.*, 2004). A zöldburok melléktermékként szerepel a természetesen belül, nyersanyagként fontos szerepet játszhat a fenolok kivonásában (Cosmulescu *et al.*, 2010). Solar *et al.* (2012) az endogén fenolos vegyületek jelenlétét vizsgálták a dió xantomonaszos betegségével szemben, azzal a céllal, hogy meghatározzák a fenolok rezisztenciában megnyilvánuló szerepét a xantomonasz betegségre. A kutatásban ‘Franquette’, ‘Cisco’ és ‘Sampion’ fajták esetében a juglont és hat más fenolsav tartalmát (ellágsav, galluszsav, sziringasav, p-kumársav, kávéssav és klorogénsav) vizsgálták. Negatív kölcsönhatás mutatható ki a termés szöveteiben található összfenoltartalom és a xantomonasz fertőzés intenzitása között mindegyik fajta esetében, rávilágítva ezáltal a fenolok jótékony hatására a betegség megfékezésében.

2.7. A DIÓT KÁROSÍTÓ BAKTÉRIUM NEVEZÉKTANA, MEGJELENÉSE ÉS ELTERJEDÉSE

A baktériumot Pierce izolálta először kaliforniai dióültetvényekből és *Pseudomonas juglandis* elnevezést adta neki. A rendszertan változása révén a kórokozó újra osztályozása által a következőképpen módosult: *Bacterium juglandis* (Pierce) Smith (Smith, 1905), *Phytomonas juglandis* (Pierce, 1901) Bergey *et al.* (Bergey *et al.*, 1930) és *Xanthomonas juglandis* (Pierce, 1901) Dowson (Dowson, 1939).

1980-tól bevezették a növénypatogén baktériumok patotípus (patovar) nevezéktanának nemzetközi szabványosítását. Ezt követően közel az összes *Xanthomonas* nemzetségbe tartozó faj *X. campestris* patovarietásként lett elnevezve: *X. campestris* pv. *juglandis* (Pierce, 1901) Dye (Dye *et al.*, 1980). A fejlődéstörténeti rendszertan alapján az 1990-es évek közepén Vauterin *et al.* (1995) arra a következtetésre jutott, hogy az addigi csoportosítás nem megegyező a baktérium

fenotípusos osztályozásával. A DNS homológia és a fenotípusos adatok felhasználásával Vauterin *et al.* (1995) 14 új xantomonasz faj esetében új megnevezést javasolt. Így napjainkban a *X. arboricola* pv. *juglandis* (Pierce, 1901) Vauterin *et al.* a dió baktériumos foltosság kórokozójának elfogadott megnevezése.

A kórokozó megjelenését és a betegség elterjedését Európában, Ázsiában, Afrikában, illetve a Nyugati félgömb és Óceánia országában egyaránt jelentették (8. táblázat).

Európában az 1920-as évek elején Olaszországban jelentkezett a dió xantomonaszos betegsége. További európai országokban (pl. Ausztria, Bulgária, Dánia, Franciaország, Németország, Görögország, Moldova, Hollandia, Lengyelország, Portugália, Románia, Spanyolország, Svájc, Anglia, Ukrajna) is megjelent a betegség (Frutos, 2010). Romániában 1941 óta van jelen, a dió állandó kórokozójaként. Magyarországon már az 1940-es években jelentős károkat okozott. A fertőzés mértéke minden évben az időjárástól függ. A korán virágzó fajták fogékonyabbak a betegségre (D. Rozsnyay, 2006).

8. táblázat. A xantomonasz földrajzi elterjedése (CABI/EPPO, 2001)

Régió	Ország
Európa	Ausztria, Bulgária, Dánia, volt Szovjetunió, volt Jugoszlávia, Franciaország, Németország, Görögország, Olaszország, Hollandia, Lengyelország, Portugália, Románia, Szlovénia, Spanyolország, Svájc, Ukrajna, Egyesült Királyság
Ázsia	Azerbajdzsán, Kína, Grúzia, India, Irán, Irak, Izrael, Libanon, Üzbegisztán.
Afrika	Dél-Afrika, Zimbabwe.
Nyugati félgömb	Argentína, Bermuda, Kanada, Chile, Mexikó, Amerikai Egyesült Államok, Uruguay
Óceánia	Ausztrália, Új-Zéland

Gazdanövényei a *Juglans regia* L. és más *Juglans* fajok. A betegség kórokozójának kedvez a magas páratartalmú, esős tavaszi időszak. Az elsődleges fertőzőanyag az a baktérium, amely az alvó rügyekben telel át (Mulrean és Schroth, 1982). A fertőzőanyag tovább terjed a széllel és esővel, illetve a fertőzéshez elengedhetetlen a víz (Miller és Bollen, 1946). A betegség súlyosabb az esős időszakos éghajlaton, ahol akár 80%-os termelési veszteséget is okozhat (Chariot és Germain, 1988). Kaliforniában a tavaszi esőzések után fakadó és virágzó fajtákat kevésbé fertőzi

a xantomonasz. Ebből kiindulva a nemesítési programok szelekciójában előnyként mutatkozik a kései rügyfakadás (Forde, 1975).

2.8. A BETEGSÉG TÜNETEI

Tünetei megtalálhatók a levélen, a hajtáson, a vesszőn, a virágbarkákon, valamint a zöldburkon és a magbélien (1. ábra). A fertőzés első tünete tavasszal a barkákon jelentkezik. Elfeketednek, meggörbülnek és elszáradnak. A nővirág a bibék megtermékenyítése előtt fertőződhet, és lehull a fákról (D. Rozsnyay, 2006). A levélen rendszerint a levélerek mentén 2-3 mm átmérőjű szögletes, vizenyős, majd fekete foltok jelentkeznek. A foltok később összeolvadnak, és emiatt nagyok, szabálytalan alakúak lesznek, a levelek deformálódnak. Nemcsak levélfoltok alakulhatnak ki, hanem a levélerek is elfeketedhetnek. A hajtáson és a vesszőn 5-8 mm hosszú fekete csíkok húzódnak, amelyek később rákos sebökké válnak. A termés *exocarpium*-án szabálytalan alakú, először apró, vizenyős, majd egyre nagyobbodó, sötétbarna foltok láthatók. Végül a zöldburok elfeketedik, rothad és rátapad a csonthéjra. A csonthéj szintén elfeketedik. A magbél összezsugorodik, elfeketedik. A foltokon fényes, filmszerű baktériumnyálka figyelhető meg (Glits és Folk, 2001).



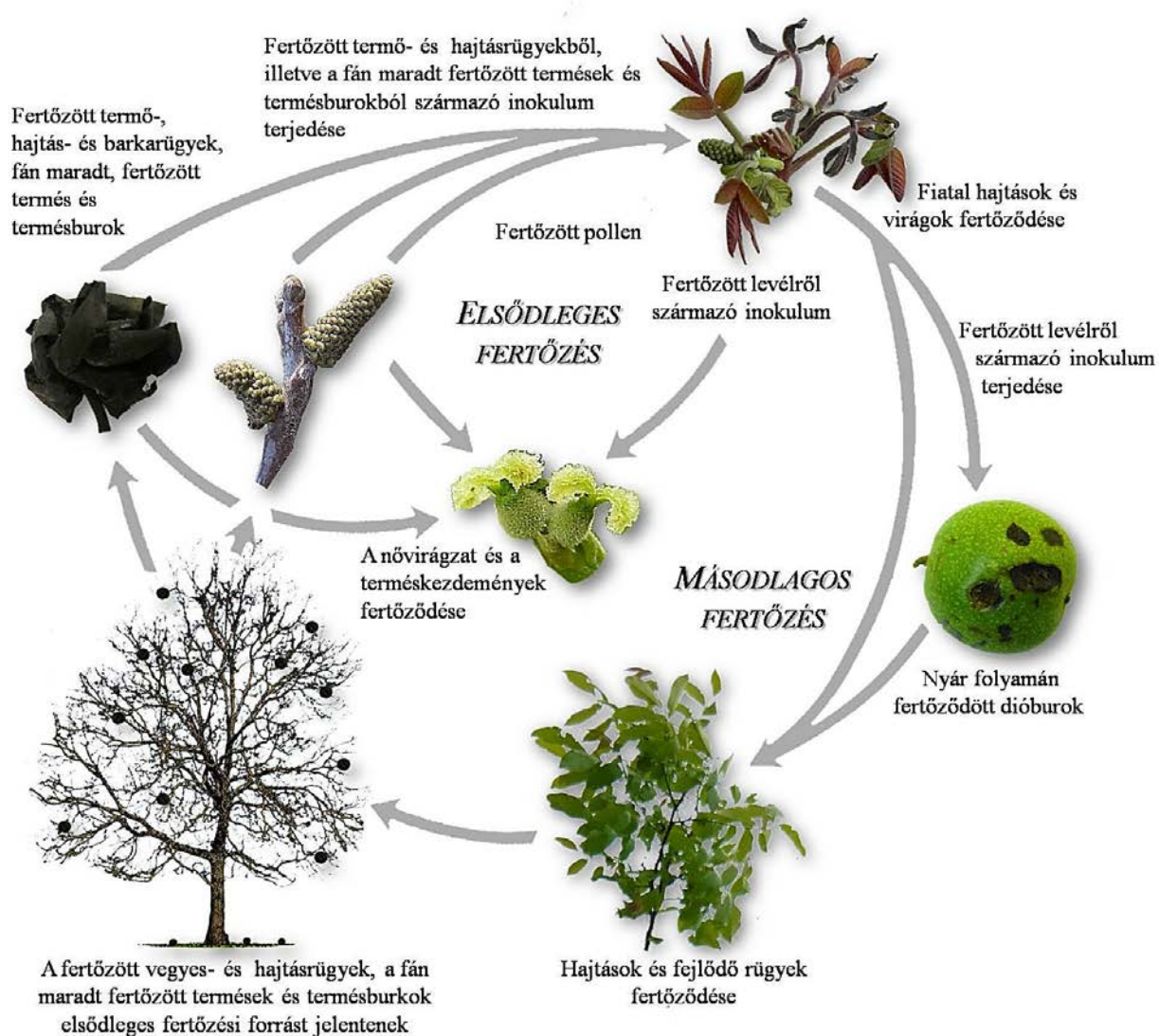
1. ábra. A dió baktériumos foltossága hajtáson, levélen, termésburkon és magbélien
(Fotó: Bandi Attila)

A fertőzési források egyrészt a lehullott levelek és termések, másrészt a fák ágrészei, ahol a kórokozó a kéregrepedésekben és a rügypikkelyek között telel át. A kórokozó esőcseppekkel, légmozgással, rovarokkal és a barkák pollenjével terjed (Ark, 1944). A baktérium elsősorban a

zsenge zöld növényrészeket, főképpen a fiatal leveleket és hajtásokat, valamint a fejlődő terméseket fertőzi (12. melléklet) (Glits és Folk, 2001).

2.9. A KÓROKOZÓ ÉLETMÓDJA ÉS FEJLŐDÉSMENETE

A betegség lefolyása körülhatárolt fázisok sorozatából áll: a kórokozó áttelelése és az inokuláció jelenléte, a növénybe való behatolás és fertőzés, a kórokozó terjedése. A betegség monociklusos, ha csak egyetlen fertőzési ciklus van egy szezomban, illetve policiklusos, ha több mint egy fertőzési ciklus lép fel a vegetációs időszak alatt (Mulrean és Schroth, 1981; Agrios, 1997) (2. ábra).



2. ábra. A dió baktériumos levél- és termésfoltosság betegség fejlődési ciklusa

Forrás: Saját ábra Mulrean és Schroth (1981) és Buchner *et al.* (2012) alapján

Áttelelés

A baktérium rügyeken és barkarügyeken való kolonizációja és áttelelése epifiton módon és belsőleg történik. Mulrean és Schroth (1982) Észak-Kaliforniában tanulmányozta a xantomonasz ökológiáját. Kimutatta, hogy a kolonizált rügyek 90%-ánál, illetve a kolonizált barkarügyek 45%-ánál epifiton módon és belsőleg egyaránt jelen van a kórokozó. Amennyiben mindkét formában jelen van a baktérium, úgy a rügyben levő xantomonasz populáció tízszerese a rügy felületén található. Továbbá a vizsgálatba vont kilenc fajta között nem találtak szignifikáns különbséget a termőrgy és a hajtásrgy fertőzöttsége között.

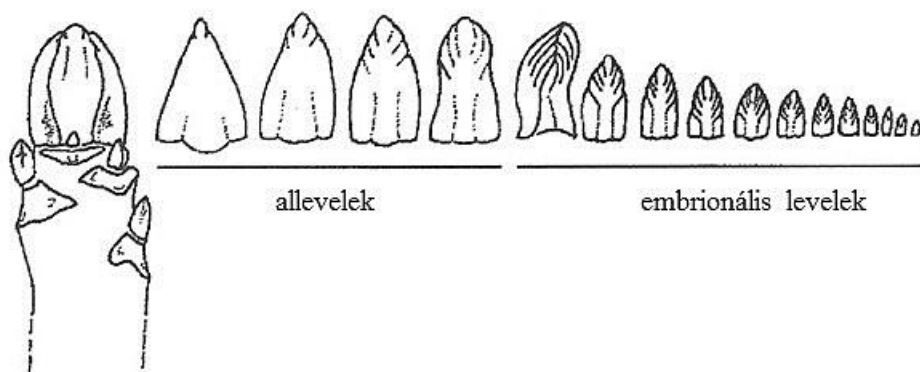
A xantomonasz áttelelése az adott növény részeiben történik, mivel nem rendelkezik sajátos túlélési rendszerrel (Schuster és Coyne, 1974). Miller és Bollen (1946) kaliforniai ültetvényekből származó fertőzött gallyakból 18 hónap elteltével izolálni tudta a xantomonaszt egy elszíneződött és elhalt szövetrészből, illetve fertőzött levélből és múmifikálódott termésből. Smith *et al.* (1912), illetve Rudolph (1933) a vesszők sérüléseiből ugyancsak izolálta a baktériumot. Ugyanakkor a kórokozó áttelelése szempontjából a rügyek fontosságára hívta fel a figyelmet Miller és Bollen (1946) összehasonlítva más fertőzött növényi részekkel. Öt évvel korábban fertőzött rügyekből izolálták a xantomonaszt.

Továbbá megemlíthető, hogy a baktériumsejtek áttelelnek a rügyeken és leveleken anélkül, hogy tünetek jelentkeznenek. Chilében Esterio és Lattore (1982) télen és kora tavasszal tünetmentes rügyekből, vesszőkből, barkavirágzatokról és múmifikálódott termésekből izolálta a baktériumot. Hasonlóképpen Észak-Kaliforniában mind a korai ('Eureka', 'Payne', 'Ashley' és 'Serr'), mind a középkorai ('Hartley' és 'Machette'), illetve a késői virágzású fajták ('Franquette') esetében a baktérium áttelelése többségében a tünetmentes rügyekben és barkarügyekben történt (Mulrean és Schroth, 1982). Viszont Mulrean és Schroth (1982) vizsgálatai rámutatnak, hogy a baktérium nagyobb arányban van jelen a rügyekben (közel 70%-ában), mint a barkarügyekben, ahol kevesebb, mint 45%-ában izolálták a baktériumot. Egy későbbi tanulmány szerint Észak-Kaliforniában a középkorai virágzású 'Chandler' fajta esetében a téli időszakban a rügyek 70%-át találták fertőzöttnek, míg a tavaszi időszakban a fertőzöttség csak 10%-kal csökkent, ami alátámasztja, hogy a rügy a baktérium legfőbb áttelelő helye (Lindow *et al.*, 2004).

Mulrean és Schroth (1982) vizsgálatai során a rügyek 90%-os, illetve a barkarügyek 45%-os fertőzöttsége esetén a kórokozó mind a rügyben, mind epifiton formában jelen volt. Ebben az esetben, amikor a rügyből és a felületéről egyaránt izolálható volt a kórokozó, akkor a rügyben található baktériumpopuláció tízszerese volt az epifiton formában jelen lévő baktérium mennyiségnek. Továbbá arra a következtetésre jutottak, hogy a kilenc vizsgált fajta hajtásrgyének és vegyesrgyének fertőzöttsége között nincs szignifikáns különbség.

A kórokozó azáltal, hogy a rügyben és epifiton formában szintén jelen van, a túlélési lehetőségét növeli. A rügyben áttelelő populáció a környezeti stressztől védve van, míg a felületen lévő populáció fertőzésre kész inokulumforrást jelent arra az időszakra, amikor a környezeti feltételek megfelelőek a betegség kialakulásához.

A xantomonasz legfőbb áttelelési helyei a vegetatív és reproduktív rügyek (Miller és Bollen, 1946; Esterio és Latorre, 1982; Mulrean és Schroth, 1982), illetve a diórügyeken belül létezik egy magas fokú térbeli szegregációja a xantomonasz populációnak (Lindow *et al.*, 2004). Kimutatták (Lindow *et al.*, 2004), hogy a rügyfakadás előtt az embrionális levelek ritkán tartalmaznak xantomonaszt (3. ábra), azonban a rügyfakadás előtti 3 hétben szinte minden levelet megfertőzött a kórokozó. Hasonlóképpen a termést is károsította a kórokozó röviddel a kialakulásuk után. Lindow *et al.* (2004) kimutatták, hogy a levelek röviddel a rügyeken való megjelenés után fertőződnek, az inokulációt pedig a nedvesség segíti elő.



3. ábra. A diórügy boncolt állapota. Balról jobbra az allevelek és az embrionális levelek láthatók. Az embrionális levelek fertőzésmentesek, míg az allevelek xantomonasz által fertőzöttek (Forrás: Lindow *et al.*, 2004)

A növénybe való behatolás

A kórokozó növénybe való bejutása történhet direkt behatolással, a gazdaszövet sérülésein és természetes nyílásain keresztül. A behatolást elősegítik olyan külső tényezők, mint a nedvesség és a növény nyílásainak a szerkezete (Rudolph, 1993).

A növények természetes nyílásai közül a légzőnyílások a legelterjedtebb behatolási helyek, mivel a légzőnyílás átmérője jóval nagyobb, mint a baktériumsejt mérete, lehetővé téve a légudvarba való bejutást (Agrios, 1997). A virágok, termések és levelek xantomonasz által történő fertőződésében a gázcsere nyílások jelentős szerepet játszanak (Miller és Bollen, 1946). Vizsgálataik során a 'Franquette' nővirágainak fertőződése a virágzás időszakában elsődlegesen a lepelleveleken található gázcsere nyílásokon keresztül történt, míg virágzás után a

terméskezdemények sztomáin keresztül hatolt be. A virágzás időszaka alatti alacsony nővirág-fertőzöttséget Miller és Bollen (1946) a gázcserenyílások alacsony számával magyarázza. A fertőzés intenzitása szempontjából Garcin *et al.* (2001) ugyancsak a sztomák fontosságára hívta fel a figyelmet; a vizsgálatba vont 'Franquette' csészeleveleinek fertőzöttsége és a sztomák száma között pozitív összefüggést észleltek. Miller és Bollen (1946) fertőződési forrásként kiemeli a természetes nyílások mellett a mechanikai sérülések szerepét.

Fertőzés

A dió xantomonaszos betegsége főképp a parenchimatikus és szállítószöveteket károsítja. (Miller és Bollen, 1946; Garcin *et al.*, 2001). A légzőnyíláson keresztül bejutva a xantomonasz sejtek sokszorozódnak, és benépesítik a légudvart, elsősorban a sejtközi járatokban, pontosabban az oszlopos és szivacsos parenchimasejtek között szaporodnak (Miller és Bollen, 1946; Garcin *et al.*, 2001).

A sejtközi járatok a baktérium sokszorozódásához szükséges összes fontos tápanyagokat tartalmazzák (Novacky és Ullrich-Eberius, 1982). A baktérium által fertőzött szövetekben az elsődleges változás a sejtmembrán megnövekedett áteresztő képességében nyilvánul meg, mely tulajdonképpen a bakteriális sejtfalbontó enzimek hatásának köszönhető (Miller és Bollen, 1946; Garcin *et al.*, 2001). A nekrozist a sejtmembrán lyukasodása idézi elő, miközben fenol felhalmozódás és elbomlás történik, ugyanakkor Miller és Bollen (1946) szerint az ozmótikus nyomás plazmolízishez, sejtelhaláshoz vezethet, mivel a xantomonasz baktérium által fertőzött szövetekben sejt protoplaszt jelenlétét figyelték meg.

A betegség kialakulásához három elem szükséges: kórokozó jelenléte, fogékony gazdanövény és kedvező időjárási viszonyok. A három tényező közül legnehezebben az időjárási viszonyokat lehet befolyásolni. A gazdanövény helyes megválasztásával (pl. kései rügyfakadású fajta), valamint a kórokozó jelenlétének felmérésével (rügyben áttelelt baktériumpopulációk mennyiségének meghatározása) viszont megfelelő döntést tudunk hozni a növényvédelmi kezelések alkalmazására, mely által szabályozni tudjuk a kórokozó populációjának méretét.

2.10. A BETEGSÉG KIALAKULÁSÁT BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK

A *Xanthomonas* nemzetség által okozott növényi betegségek fejlődését jelentősen befolyásolják a környezeti tényezők, amelyek hasonlóképpen befolyásolják a kórokozó fejlődését és a gazdanövény fogékonyságát (Stall *et al.*, 1993).

2.10.1. KÓROKOZÓ FERTŐZŐKÉPESSÉGE (VIRULENCIÁJA)

Egy baktérium szaporodási képességét a gazdanövényben részben a virulencia faktorok vagy a baktérium által termelt fitotoxinok befolyásolják (Janse, 2006). A virulencia faktorok közé azok az enzimek tartoznak, amelyek a növényi sejteket és szöveteket a baktérium számára kolonizálhatóvá teszik. Smith *et al.* (1912) szerint a *X. arboricola* pv. *juglandis* által termelt enzim lebontja a cellulózt. Ezzel szemben Miller és Bollen (1946) megállapította, hogy a 43 napig agar táptalajon tenyésztett *X. arboricola* pv. *juglandis* esetében nem találtak mérhető cellulóz enzimszintet egy törzs esetében sem. Azt javasolták, hogy a kórokozó által termelhető cellulózbontó enzim a gazdanövény megtámadt szöveteiben vagy a bakteriális fertőzés hatására a gazdanövény termeli. A cellulózzal kapcsolatosan Smith *et al.* (1912), valamint Miller és Bollen (1946) megállapították, hogy a *X. arboricola* pv. *juglandis* fehérjebontó enzimeket termel. Azonban Miller és Bollen (1946) a vizsgálatba vont négy izolátumok között különbségeket talált. Az izolátumokban - 28 °C-on, 4 napon keresztül vizsgálva - pektin bontó enzim termelést állapítottak meg, azoban az egyik izolátum 24 nap elteltével mutatott aktivitást. Kaliforniai, oregoni és washingtoni dió ültetvényekben keményítő-hidrolizáló képességet találtak a *X. arboricola* pv. *juglandis* izolált törzsekben (Pierce, 1896; Smith *et al.*, 1912; Miller és Bollen, 1946; Mulrean és Schroth, 1981). Miller és Bollen (1946) szerint a diasztáz (amiláz) katabolikus enzim felelős a keményítő hidrolíziséért, amikor a mikroorganizmusokat burgonya dextróz agaron vagy keményítő agaron tenyésztjük. Az amerikai ültetvényekből izolált törzsekkel ellentétben a Dél-afrikai faiskolákból begyűjtött tizenegy izolátum közül hat esetében nem volt megfigyelhető a keményítóbontás (Du Plessis és Van der Westhuizen, 1995).

2.10.2. INOKULUM MENNYISÉG

Kaliforniai ültetvényekben összefüggést figyeltek meg a tél végi és a kora tavaszi rügyekben megtalálható *X. arboricola* pv. *juglandis* populáció mérete, valamint a nyár elején a termések megbetegedési aránya között (Lindow *et al.*, 2004); e vizsgálatokon belül, tíz évből hét évben a populáció sűrűsége 10^5 baktériumsejt/rügy esetében a fertőződött termések aránya 25% és 45% közötti értéket mutatott. Abban az esetben, amikor kevesebb, mint 10^2 baktériumsejt/rügy volt a betegség előfordulása 15% és 25% közötti arányra csökkent. Ezzel szemben Mulrean és Schroth (1982) a kaliforniai ültetvényekben a nyugalmi időszakban alkalmazott négy rezes alapú permetezés használatával a fiatal hajtásokon lévő baktériumsejtek számát $1,1 \times 10^8$ -ról $1,9 \times 10^5$ -re csökkentette. Ezáltal a későbbiek során a betegség előfordulása nem okozott termésfertőzést. Hasonlóképpen Franciaországban a 'Franquette' termésein a nyár elején a betegség előfordulása szignifikánsan különbözött két ültetvényben annak ellenére, hogy a *X. arboricola* pv. *juglandis*

populáció hasonló volt a nyugalmi állapotban lévő rügyekben (Giraud *et al.*, 2010). Ily módon, mélyebb vizsgálat szükséges az inokulum képződés, a gazdanövény fenológiája és a fertőzéssel kapcsolatos környezeti feltételek megértéséhez.

2.10.3. A GAZDANÖVÉNY FOGÉKONYSÁGA

Azon diófajták, melyek rügyfakadása korai jóval fogékonyabbnak bizonyultak a dió baktériumos foltosság betegségére (Olson *et al.*, 1997; Frutos és López, 2012). Belisario *et al.* (1997) kísérletében a vizsgált fajták közül a legellenállóbbnak a késői rügyfakadású ‘Franquette’ bizonyult. Spanyolországi ültetvényekben ugyanezen fajta lombzatán szignifikánsan alacsonyabb volt a baktériumos levélfoltosság a ‘Vina’ fajtához képest. Következtetésképpen a szerzők megállapították, hogy a ‘Vina’ fogékonyabb volt a baktériumos levélfoltosságra, mint a ‘Franquette’ (Aleta *et al.*, 2001). Amikor azonban a termékenyülést követően 30 nappal (Gf+30) megszedett éretlen terméseket mesterségesen fertőzték, mindkét fajta, ‘Franquette’ és ‘Vina’ is nagyon fogékonyak bizonyultak. Hasonlóképpen a kaliforniai ültetvényekben a ‘Serr’ és annak szülőfajtáit mesterségesen *X. arboricola* pv. *juglandis* szuszpenzióval fertőzve a betegség gyorsan kialakult és intenzíven terjedt a fertőzetlen szöveti részekben (Mulrean és Schroth, 1982). Elsődlegesen ezek az eredmények arra utalnak, hogy a különböző fajták és növényi szövetek eltérő fogékonyságot mutatnak a dió baktériumos foltosságára.

Számos fenolvegyület, különösen a juglon és a glükozidjai, szerepet játszanak a fertőzések és azok fogékonyságának csökkentésében a *X. arboricola* pv. *juglandis* kórokozóval szemben (Radix *et al.*, 1998). A nagyobb mennyiségű juglon jelenléte következtében a ‘Parisienne’ esetében - a ‘Franquette’ fajtával összehasonlítva - csökkent a fogékonyság a francia ültetvényekben (Radix *et al.*, 1998).

2.11. A KÖRNYEZETI TÉNYEZŐK HATÁSA A BETEGSÉG KIALAKULÁSÁRA

A felületi nedvesség időtartama kritikusnak számít a betegség kialakulásában. Észak-Kaliforniában szabadföldi és üvegházi kísérletekben, mindössze 5 perces folyamatos nedvesség volt szükséges ahhoz, hogy a fertőzés a terméseken kialakuljon, ami a nyitott légzőnyílások révén a szövetek vízzel való telítődése gyorsított fel (Miller és Bollen, 1946). A szabadföldi kísérletekben azonban legkevesebb 12 - 24 óra közötti felületi nedvesség volt szükséges ahhoz, hogy a terméseken kialakuljon a betegség (Adaskaveg *et al.*, 1995). Mindkét szerző szerint a fogékonyságbeli különbségeket a fajtákra és a különböző fenofázisokban a növényi szervek eltérő fogékonyságára vezethető vissza.

Több éves vizsgálatok eredményei alapján a betegség intenzitása fokozódott azon csapadékos tavaszi időszakokban, amelyeket jelentős léghőmérséklet emelkedés követett. Azonos csapadék viszonyok alatt vizsgált dióültetvények csak a légköri csapadékot követő melegebb hőmérséklet szerint mutattak összefüggést a xantomonasz károk intenzitásában. Ebben az esetben Denzer (2008) szerint a relatív páratartalom, mint harmadik kapcsolati tényező nem befolyásolja a fertőzöttség mértékét.

Üvegházi vizsgálatok során Miller és Bollen (1946) megfigyelte, hogy az 5 °C-ról 27 °C-ra emelt hőmérséklet nem okozott jelentős különbséget a termések fertőződésében, inkább csak fokozta a nekrotikus foltok kialakulását. Ezzel szemben a levelek fertőzöttségét a 4 °C-ról 30 °C-ra emelt hőmérséklet pozitívan befolyásolta (Miller és Bollen, 1946).

Breed *et al.* (1957) szerint a kórokozó optimális hőmérséklet igénye 28 °C és 32 °C között található. A kórokozó számára a 4–37 °C közötti hőmérséklet kedvező. Ilyenkor az inkubációs idő általában 10–15 nap (Glits és Folk, 2001; Breed *et al.*, 1957).

A relatív páratartalom hatását a *X. arboricola* pv. *juglandis* szaporodására még nem vizsgálták; viszont Dél-Spanyolországban a fa koronáján belül megnövekedett relatív páratartalom a betegség előfordulását fokozta (Arquero *et al.*, 2006).

2.12. A BETEGSÉG ELLENI VÉDEKEZÉS LEHETŐSÉGEI

A különböző védekezési módszerek segítenek az adott gazdanövény kórokozótól való mentesítésében, növelve a gazdanövény ellenálló képességét, közvetlen védelmet nyújtva a kórokozóval szemben, megsemmisítve vagy csökkentve az inokulum mennyiségét (Agrios, 1997). Egy adott betegség esetében a megfelelő védekezési módszert vagy a védekezési módszerek kombinációját úgy tudjuk a legalkalmasabban meghatározni, ha ismerjük a kórokozó életciklusát és kölcsönhatását a gazdanövény és a kórokozó közötti kölcsönhatást (Lozano és Wholey, 1974). A továbbiakban e módszerek használatával szabályozhatjuk a kórokozó elterjedését, ezáltal összpontosítva a fertőzés csökkentésére, így védelmet nyújtva a növények számára.

2.12.1. RÉZ HATÓANYAG-TARTALMÚ ÉS RÉZ HATÓANYAG-TARTALOM NÉLKÜLI KEZELÉSEK

Miller és Bollen (1946), illetve Mulrean és Schroth (1982) szerint a leghatékonyabb baktericidek a *X. arboricola* pv. *juglandis* populáció csökkentésére azok a termékek, amelyek réz hatóanyagtartalmúak. A legszélesebb körben használt réztermékek a réz-oxi-klorid, a réz-hidroxid, a réz-szulfát vagy a bordói lé (Mew és Natural, 1993). A réz nélkülözhetetlen elem az enzimek számára, valamint szerepet játszik a sejtlégzésben, azonban egy meghatározott koncentráció felett

a réz károsítja a DNS és lipid membránokat, ezáltal mérgezést válthat ki a sejten belül (Hoshino *et al.*, 1999; Muller *et al.*, 2000; Finney és O'Halloran, 2003).

A réz önmagában alkalmazva nem mindig nyújt hatásos eredményt a dió baktériumos foltosságával szemben. Azonban az etilén-bis-ditiokarbamát hatóanyagú gombaölő szerek (EBDC), mint például a maneb és mankoceb a rézzel együttesen használva csökkentette a dió xantomonaszos betegségének súlyosságát a réz egyedüli használatával szemben. Tazmániai ültetvényekben a fertőzés mértéke szignifikánsan mérsékelhető volt a réz-mankoceb alapú készítmények kombinációival (Lang *et al.*, 2006). Hasonló eredmények mutatkoztak Észak-Kaliforniában is, ahol szintén az EBDC használata megnövelte a réz alapú készítmények hatását (Buchner *et al.*, 2001). Az EBDC kelátképző képessége növelheti a réz mérgező tulajdonságát, mivel gátolja más szerves anyaggal való komplex képzést (Cooksey, 1990).

2.12.2. A RÉZ ALAPÚ PERMETEZÉSEK IDŐZÍTÉSE

A monociklikus betegségek ellenőrzése érdekében a kezdetleges inokulum csökkentése vagy kizárása lehet a megfelelő módszer. Kaliforniában tíz ültetvényből hétben megfigyelhető volt, hogy a termések baktériumos foltosságának előfordulása a monociklusos fertőzés esetén teljes mértékben a kezdetleges inokulum mennyiségétől függött (Adaskaveg *et al.*, 2000).

Hasonlóan Ninot *et al.* (2002) megállapították, hogy a spanyol ültetvényekben a *X. arboricola* pv. *juglandis* populáció előfordulása nagyon változó a tavaszi időszakban és viszonylag nyáron állandó, amiből arra következtethetünk, hogy a populáció növekedésének csökkentésére használt kémiai kezeléseket főleg a tavaszi időszakra kell időzíteni. Vizsgálataik során két kezelési módot alkalmazva, a két-három hetes rügyfakadási időszak alatt alkalmazott három permetezés szignifikánsan nem növelte meg a betegség előfordulását és súlyosságát, összehasonlítva a hét kezeléssel, melyet a rügyfakadás időszakán túl további négy héten keresztül, heti egyszeri alkalommal juttattak ki.

Észak-kaliforniai ültetvényekben végzett 14 éves kutatás idején, a maximum három permetezés alkalmazása a rügyfakadás kezdetétől a virágzás befejezéséig megfelelő védelmet biztosított a betegséggel szemben (Miller és Bollen, 1946). Későbbi vizsgálatok során hasonlóan eredményre jutott Lindow *et al.* (2004) az észak-kaliforniai ültetvényekben, ahol a betegség előfordulása a terméseken jelentősen csökkent a rügyfakadást követő egy, illetve két hét után történt réz alapú permetezés következtében. Magyarországi ültetvényekben a xantomonasz fertőzés kivédésére legkevesebb 10 rézalapú kezelésre volt szükség abban az esetben, amikor a pollen szóródás időszaka folyamán jelentős mennyiségű csapadék hullott (Süle *et al.*, 2007). Szerbiában a virágzás előtt elvégzett kezelések biztosítottak megfelelő védekezést a kórokozóval szemben (Arsenijevic és Obradovic, 2007).

Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a rügyfakadás ideje alatt alkalmazott baktericides permetezés használata csökkentheti az inokulum képződését, óvja az elsődleges fertőzéseket, és egyciklikus fertőzésben csökkenti a betegség megjelenését. Kedvező feltételek mellett általában a baktériumpopulációk szaporodása exponenciálisan növekszik (Stall *et al.*, 1993), és így közvetlen összefüggés figyelhető meg a dió baktériumos foltosságának mennyisége, a rügyben lévő baktériumsejtek és a megbetegedett termések átlagos száma között (Lindow *et al.*, 2004).

Egy öt éves kaliforniai kutatás eredményei alapján kimutatták, hogy a csapadékos tavasz policiklikus fertőzéshez vezet, ezáltal lényegesen növelve a betegség súlyosságát (Adaskaveg *et al.*, 2000). Így a rügyfakadás után a réz többszöri adagolása általánosan csökkenti a betegség mértékét. Azonban magas csapadékmennyiség esetén romlik a réz alapú kezelések hatékonysága (Ninot *et al.*, 2002). Meggyültetvényekben a *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* ellen alkalmazott réz alapú készítmények hatékonysága felére csökkent, amikor heti 40-90 mm csapadékmennyiség hullott (Olsen és Jones, 1983). Ezért a dió baktériumos foltosságával szemben a hatékonyabb kezelés érdekében a réz alapú készítmények kijuttatása csapadék után indokolt. A policiklikus fertőzéseknél, az inokulum többszörözése több alkalommal megtörténhet ugyanabban a vegetációs időszakban, ezáltal további ellenőrző kezelések szükségesek a betegség szabályozása érdekében a termések növekedési időszakában is.

Azonban a gyakori rézhasználat következtében francia és észak-kaliforniai dióültetvényekben kialakultak a réztoleráns baktériumtörzsek (Gardan *et al.*, 1993; Lee *et al.*, 1993), melyek aktivitásuk során rézionokat halmoznak fel a periplazmában és a külső membránsejtekben (Cooksey, 1990). Továbbá a talajban felhalmozódott réz a dió esetében termésveszteséghez vezet (Radix és Seigle-Murandi, 1993). Megállapították, hogy 80 és 110 mg/kg rézkoncentráció összességében a talaj élővilágának hanyatlásához vezet (Martin, 1986; Paoletti *et al.*, 1995). Ninot *et al.* (2002) szerint 14 kg réz hektáronkénti kijuttatása három év alatt 80%-os réztartalom-növekedést eredményezett a talaj felső 10 cm-es rétegében, szemben a 7 kg/hektár alkalmazásával.

2.12.3. BIOLÓGIAI MÓDSZEREK

Xantomonasz baktériumfajokra specifikus bakteriofágok nagy mennyiségben fordulnak elő a természetben, a gazdabaktériumokkal és a beteg növényi részekkel együtt a talajban egyaránt megtalálhatók (Hayward, 1964; Stolp és Starr, 1964). Új-Zélandi dióültetvényekben a bakteriofágok könnyen elkülöníthetők a talaj felső 2,5 cm rétegéből, ahol korábban a *X. arboricola* pv. *juglandis*-t izolálták (McNeil *et al.*, 2001). Ennek következtében a bakteriofágok potenciális felhasználása, mint bio-szabályozó készítmények a *X. arboricola* pv. *juglandis* ellen, már bizonyított az új-zélandi ültetvényekben; azonban ennek a módszernek a használatához további kutatásokra van szükség annak érdekében, hogy megvalósítható legyen egy integrált védekezési

stratégia (Jenkins *et al.*, 2010). Özaktan *et al.* (2008c, 2010) vizsgálatai szerint a *Xaj* antagonista baktériumok levélfelületre történő kipermetezésével csökkenthető a réz alapú permetezések száma. További biológiai védekezést lehetővé tevő készítmények vannak jelenleg tesztelés alatt az AgraQuest Inc. fejlesztéseként, mint a Serenade® (*Bacillus subtilis*, 713-as törzse) és a Sonata® (*Bacillus pumilis*, 2808-as törzse) (Özaktan *et al.*, 2007b; Serrano *et al.*, 2013).

2.12.4. ELŐREJELZÉSEN ALAPULÓ MEGOLDÁSOK

Az észak-kaliforniai dióültetvényekben a magas hőmérsékletet és a megnövekedett páratartalmat kritikus tényezőként azonosították a dió xantomonaszos betegség esetében (Adaskaveg *et al.*, 2000). Ezen ismeretek alapján fejlesztették ki a XanthoCast™ modellt - a Kaliforniai Davis Egyetem munkatársai közösen a FieldWise Kft.-vel -, mely a páratartalom és hőmérséklet felhasználásával kiszámítja a betegség napi előfordulásának kockázatát.

Szabadföldi vizsgálatok során a réz alapú készítmények kijuttatását a gazdanövény megfelelő fenológiai fázisához időzítve a XanthoCast™ előrejelzések alkalmazásával kevesebb számú permetezést kellett elvégezni, mint a naptári permetezési rendszer szerint (Adaskaveg *et al.*, 2009). Ezek az eredmények azt mutatják, hogy potenciálisan csökkenthető a réz alapú permetezések száma a rendszer alkalmazásával.

3. CÉLKITŰZÉSEK

A PhD munka keretében a következő célokat tűztük ki:

1. Erdélyben a különböző tájegységeken fellelhető magonc dióállományok felkutatása és vizsgálata:
 - ❖ a terepi felmérések adatai alapján értékelni a különböző termesztő vidékek dióállományának variabilitását a termésmorfológia és a szabadföldön felmért betegség-ellenállóság alapján.
 - ❖ kiválasztani azon egyedeket, amelyek áruértékük alapján a legértékesebbeknek bizonyulnak.
 - ❖ a diópopulációk baktériumos betegségeire (*Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* (Pierce) Vauterin *et al.* való fogékonyságának meghatározása alapján kiemelni a xantomonasz toleráns genotípusokat.
2. A kiválasztott legjobb szelekciók és a Magyarországon államilag elismert fajták termésmorfológiai és minőségi sajátosságainak összehasonlítása.
3. Az értékesebb szelekciók fogékonyságának meghatározása, valamint a Magyarországon nemesített fajták fogékonyságával kapcsolatos ismeretek kibővítése mesterséges fertőzések alapján.
4. Fenolvegyületek antibakteriális hatásának vizsgálata a dió xantomonaszos betegsége esetében.
5. Különböző xantomonasz toleranciával rendelkező diófajták és szelekciók fenolprofiljának meghatározása.
6. A fertőzés élettani hátterének vizsgálata a fenolvegyületek változásával összefüggésben.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. DIÓPOPULÁCIÓK DIVERZITÁSÁNAK FELMÉRÉSE ERDÉLYBEN

4.1.1. A SZABADFÖLDI KÍSÉRLETEK HELYE ÉS NÖVÉNYANYAGA

A szabadföldi vizsgálatok - eddig még nem kutatott - Erdélyben fellelhető háztáji, illetve vadon termő diópopulációk átvizsgálására és szelekciójára irányultak. A terepmunka során a kárpáti rassz erdélyi populációinak módszeres elemzésével felkutatásra és kiválogatásra kerültek a különböző tájegységek értékes termőfái.

Munkánk során Felső-Háromszék, Maros-tere, Kis-Küküllő mente és Nyárad mente 57 településén nagyszámú növényállományt (648 termőfát) vizsgáltunk át 2007 és 2011 között.

Az első diópopuláció felmérést a Kárpát-medence legkeletibb részén, a Kárpát-kanyarban Felső-Háromszék vidékén végeztük, ahol 26 település dióállományát felleltározva 19 esetben végeztünk részletes elemzéseket. A diópopuláció további feltérképezését az Erdélyi-medence középső részén, Marosszéken folytattuk: Maros-tere, Kis-Küküllőmente, illetve Alsó- és Felső Nyáradmente dióállományát értékelve (9. táblázat).

9. táblázat. A vizsgálatok helyszínei

Tájegység	Helység
Felső-Háromszék	Maksa, Dálnok, Kézdiabícs, Kézdimárkosfalva, Csernát, Ika, Futásfalva, Torja, Kézdiszentlélek, Kézdikővár, Kézdiszentkereszt, Bélefalva, Kurtapatak, Esztelnek, Csomortán, Kézdiálmás, Lemhény, Kézdimartonos, Ozsdola, Hilib, Haraly, Gelence, Zabola, Páva, Székelytamásfalva és Szörce
Maros	Marosszentanna, Mezőkölpény, Nagyernye, Kebeleszentivány, Maroskeresztúr, Nyárádtő, Lukafalva, Fintaháza, Mikefalva, Vajdakuta, Somosd, Cserefalva, Kisgörgény, Backamadaras, Nyáradgálfalva, Nyárádszentanna, Csíkfalva, Székelykál, Nagyadorján, Kisadorján, Rigmány, Geges, Makfalva, Nyárádszentimre, Torboszló, Székelybere, Márkod, Deményháza, Mikháza, Nyárádköszvényes és Jobbágytelke

A vizsgálatok helyszínéül azokat a tájegységeket választottuk, ahol a dió nagy arányban jelen van a háztáji kertekben, illetve a spontán flóra részeként. A kiválasztott és részletesen vizsgált termőfáknak az adott termőtájban való pontos elhelyezkedését egy műholdkapcsolatra alapozott

helymeghatározó rendszer (GPS) segítségével, digitális térképre felvételeztük (4. és 5. ábrák). A vizsgálatba vont termőfákról termésmintát gyűjtöttünk (termőfánként 40-40 termést), majd a részletes mérések után az értékesnek bizonyuló termőfákról megszedtük az oltóvesszőket a további részletes fajta-összehasonlító vizsgálatok megszervezése céljából.

4.1.2. A VIZSGÁLT TERMŐHELYEK DOMBORZATI ÉS ÉGHAJLATI JELLEMZŐI

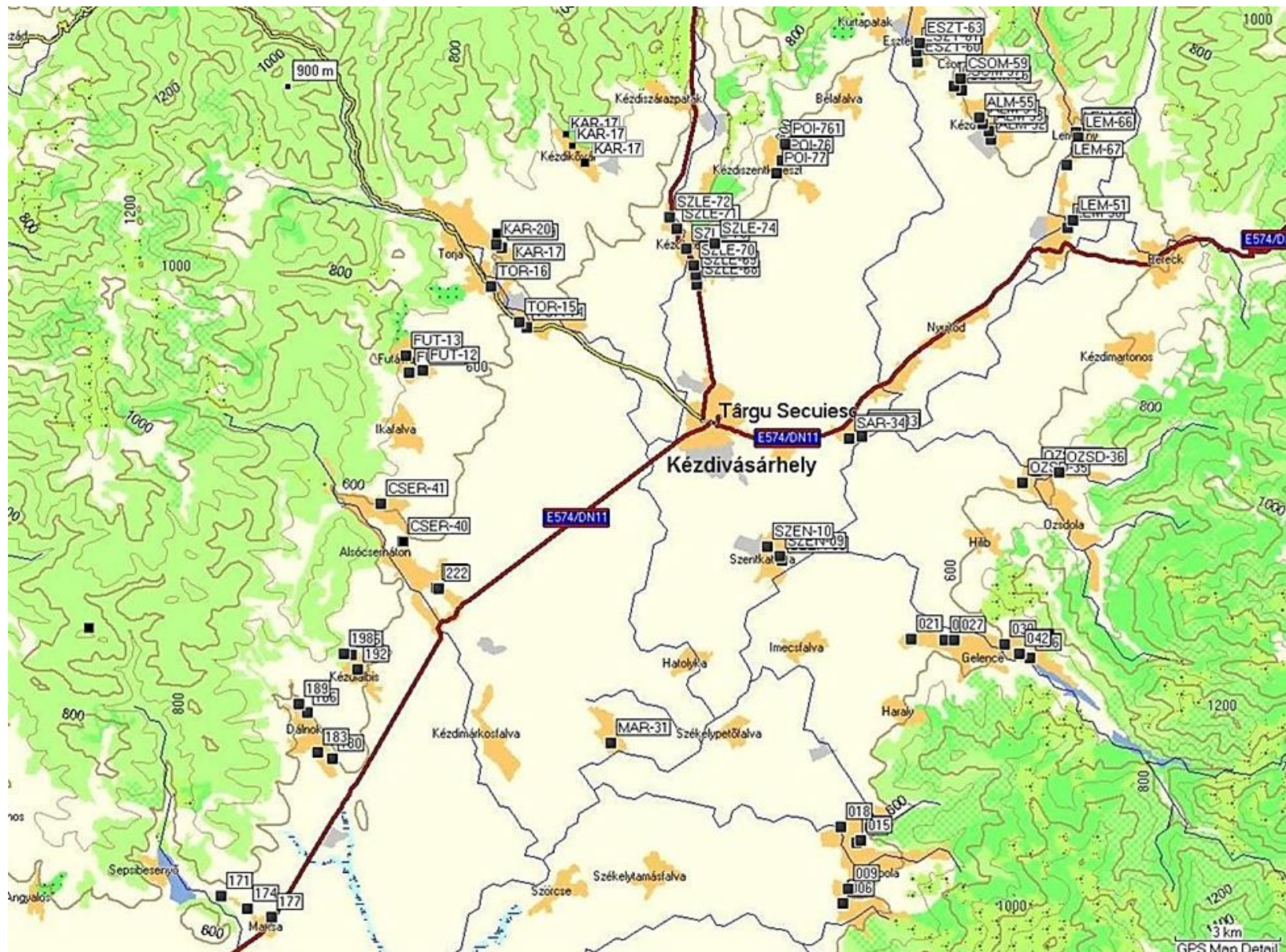
Felső-Háromszék domborzati felszínét többnyire hegyek, dombok és magasan fekvő kárpátközi – ún. intrakárpátikus - medencék alkotják. Főbb domborzati hegységei 929 m (Szerede tető) és 1777 m (Lakóca csúcs) tengerszintfeletti magasság között található. A hegyeket követő hegylábi dombságok 700-850 m között változnak. Ez a Nemere által nem érintett vidék, ahol a gyümölcsstermesztésnek kedvező feltételek teremtnének. A fennmaradt terület a medence síkja, 500-650 m tengerszintfeletti magasságokkal (Kisgyörgy, 2005), melynek belső részét a Feketeügy és mellékpatakainak teraszos síksága, árterülete képezi.

Éghajlata mérsékelt kontinentális, olykor-olykor szélsőséges jelleggel. Ezt főleg a melegebb nyugati szelek-ciklonok, az északi, keleti hideg áramlatok, a szibériai anticiklon határozzák meg. Az alacsonyan fekvő Ojtozi-szoroson hatol be az időszakos téli szél a Nemere.

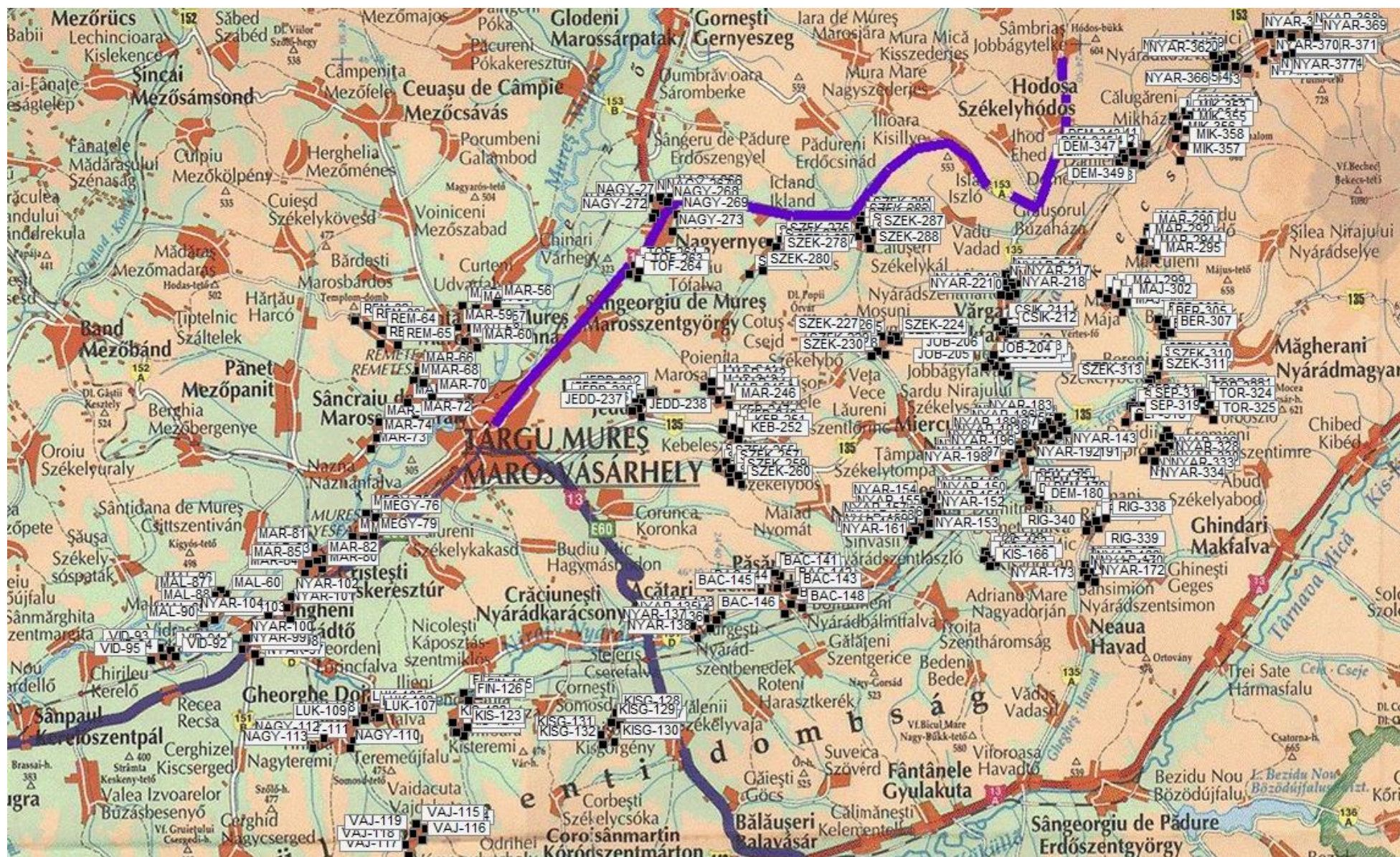
Gyümölcsstermesztési szempontból a medencét két részre lehet osztani, egyik a Nemere által nem érintett hegyaljai vidék, míg a másik a Feketeügy-menti mezőföld. A mezőföld a Nemere káros hatásai miatt csak szántóföldi növénytermesztésre alkalmas, kevésbé megfelelő gyümölcsstermesztésre. Azonban a hegyek alatti falvakban - a Nemere által nem érintett vidék - a gyümölcsstermesztésnek kedvező feltételek teremtnének (Köntzey, 1999).

Marosszék domborzati felszínét legnagyobb részben a dombvidék teszi ki. Az északkelet-délnyugat irányú hosszanti fekvésű völgyek között a vízválasztó gerincek és völgytalpak szintkülönbsége kicsi. Ilyen az Erdélyi Mezőség és a Kis-Küküllők dombvidéke, melynek tengerszintfeletti magassága 600-650 m magas. A Nyárad menti dombok 500 m körüli magasságúak a Maros és a Nyárad folyó között. A Maros és a Kis-Küküllő menti dombvidék tengerszintfeletti magassága a 600 m-t közelíti. Legalacsonyabb pontja a Maros völgyében található, Nyárádtő mellett, 300 m tengerszintfeletti magasságban.

Éghajlata jellegzetesen mérsékelt szárazföldi, de helyi változatosságát a felszíni formák magassága és a lejtők kitettsége határozza meg. A sokévi középhőmérséklet 9,3 °C, míg az összcsapadék mennyiség 574 mm (Balás, 2009).



4. ábra. A kiválasztott és részletesen vizsgált termőfák elhelyezkedése a Felső-Háromszéki termőtájban



5. ábra. A kiválasztott és részletesen vizsgált termőfák elhelyezkedése a Maros, Nyárad és a Kis-Küküllő folyók közötti dombvidéken

A vizsgált populációt két eltérő évjáratban értékeltük, ami a fertőzés megnyilvánulása szempontjából nagyon lényeges. Az éghajlati tényezők tekintetében megállapítható, hogy Felső-Háromszék többéves májusi (68,14 mm) és júniusi (81,48 mm) átlagaihoz viszonyítva a 2009-es évjárat vegetációs időszakának első felében nagyobb mennyiségű csapadék hullott 87,2 mm (május), illetve 114,7 mm (június). Az évi összes csapadék mennyisége viszont alacsonyabb (364 mm) volt a sokévi értékhez (1971-2000) viszonyítva (374,66 mm). A 2010-es évjárat május-július időszakában jóval több csapadék mennyiséget regisztráltak (+84,46 mm, +103,12 mm, +54,41 mm), mint amit ugyanezen hónapok sokévi átlagértékei mutatnak (68,14 mm, 81,48 mm, illetve 77,01 mm). A vegetációs időszak összcsapadéka 671,7 mm, mely 297,04 mm-el több, mint a sokévi átlag.

A havonkénti átlagos hőmérséklet 2009-ben megközelítően alakult a sokévi átlag értékeihez (1971-2000), míg 2010 június és július hónapokban +2,41 °C és +3,0 °C átlagos havonkénti hőmérséklet különbségeket regisztráltak a sokévi átlagértékekhez viszonyítva (2. melléklet).

A Marosmenti diópopuláció felmérését 2010-ben és 2011-ben végeztük. A két évjárat vegetációs időszakában lehullott összes csapadék mennyiség különbsége 112,4 mm. A felmérés első évében a fertőződés szempontjából kritikus fenofázisokban (rügyfakadás, hajtásnövekedés, virágzás és terméskezdemény fejlődés időszakában) a havonkénti összcsapadék mennyisége meghaladta a 100 mm-t. Legtöbb júniusban hullott (132,4 mm). A 2011-es vegetációs időszak első és utolsó két hónapjaiban a többéves adatokhoz viszonyítva kevesebb csapadék esett, míg június (153,6 mm) és július (98,4 mm) csapadékmennyisége kiemelkedő.

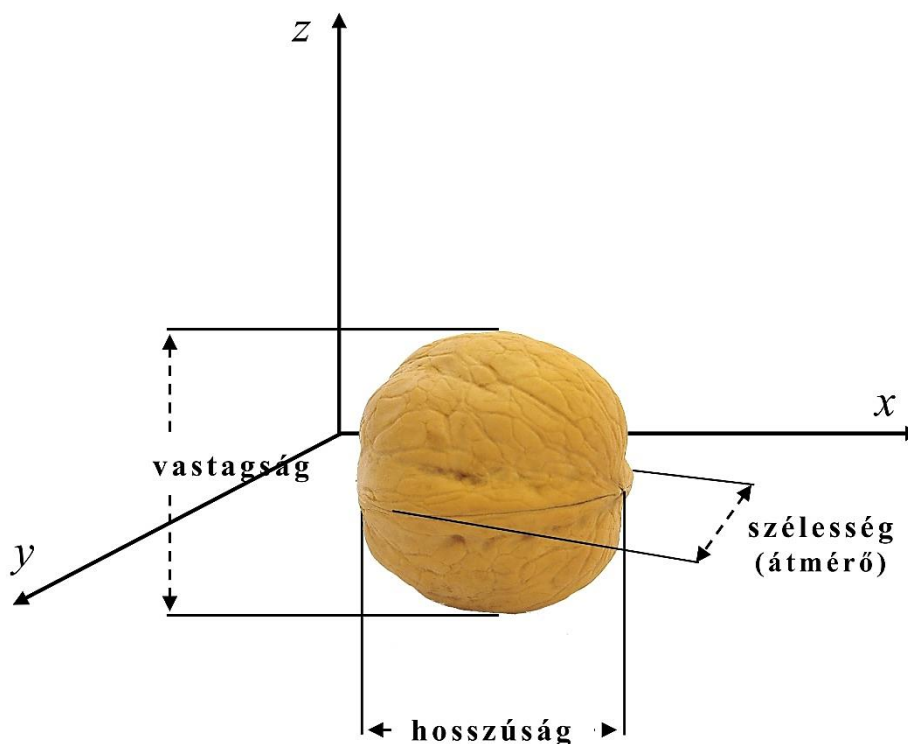
A havonkénti átlagos hőmérséklet 2010-ben 11,6 °C és 21,1 °C között, míg 2011-ben 11,6 °C és 20,1° C között változik. A sokévi átlagos adatokhoz (1971-2000) viszonyítva legnagyobb különbséget a 2010-es vegetációs időszak során júliusban (+1,5 °C) és augusztusban (+1,9 °C) regisztráltak, valamint 2011-ben áprilisban 1,2 °C, illetve szeptemberben 1,7 °C különbséget rögzítettek a sok évi átlagos értékekhez mérten (3. melléklet).

4.1.3. A TERMÉSEK FIZIKAI PARAMÉTEREINEK MÉRÉSI MÓDSZEREI

A vizsgálati évek során szeptember és október folyamán gyűjtöttük a termésmintákat termőfánként 40-40 termést. A mintákat raschel zsákban, sötét helyiségben, szobahőmérsékleten (20 °C) tároltuk a mérések megkezdéséig.

A termések hosszúságát, szélességét (átmérőjét), vastagságát (6. ábra), valamint a csonthéj (*endocarpium*) vastagságát számítógéphez csatlakoztatható, Mitutoyo CD-15APX típusú digitális tolómérő segítségével 0,01 mm-es pontossággal határoztuk meg. A termések tömegét pedig laboratóriumi digitális mérleggel mértük, majd törés után külön mértem önmagában a magból

tömegét, majd meghatároztuk a termésfal-magbélarányt. Továbbá meghatároztuk a törés utáni magbélfrakciók részarányát (%), a következő csoportosítás szerint: fél, negyed, törmelék, hibás.



6. ábra. A diótermés három mért fizikai paramétere

Forrás: Saját ábra Gharibzahedi *et al.* (2012) alapján

A termések három fő fizikai paramétereinek felhasználásával - a korábbi szakirodalmi források által kidolgozott képletek alapján- különböző mutatókat képeztünk. Az alakindexet Ozkan és Koyuncu (2005) képlete alapján számoltuk, ahol $A_i < 1,25$ gömbölyded, illetve $A_i > 1,25$ elliptikus termésalakot jelöl:

$$A_i = h / ((D+d)/2)$$

A_i : alakindex

h: hosszúság (mm)

D: szélesség (mm)

d: vastagság (mm)

A térfogatot (V , cm^3) a $V = (\pi/6) \times Dg^3$ képlet szerint számoltuk (Ercisli *et al.*, 2012):

V : térfogat





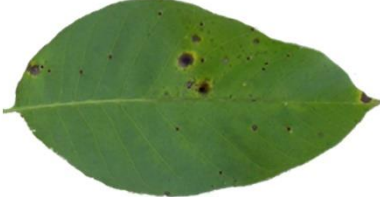







Dg : mértani átlag átmérő

$$Dg = (hxDxd)^{1/3} \quad (\text{Mohsenin, 1986})$$

4.1.4. A DIÓPOPULÁCIÓK *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* FOGÉKONYSÁGÁNAK ÉRTÉKELÉSE SZABADFÖLDÖN

A fertőzöttség mértékét Felső-Háromszék vidékén 2009-ben és 2010-ben, valamint Maros-, Nyárad- és Kis-Küküllő mentén 2010-ben és 2011-ben Hunter és Roberts (1978) módszere alapján mértük fel évente júliusban, a fertőzés lefolyása szempontjából kritikus időszak után. Az értékeléshez a korona négy égtáj felőli részéről véletlenszerűen 20-20 levél- és termésmintát szedtünk. A fertőzöttség intenzitását 0-5 skálájú bonitálással értékeltük a megbetegedett felület nagyságát viszonyítva a teljes levélke-, illetve termésfelülethez (10. táblázat).

10. táblázat. A betegség tüneteinek erőssége a dió levelén és az éretlen termés *exocarpiumán* (fertőzési index)

Nekrotikus foltméret (%)	Tünet ismertetése	Levélminta	Termésminta	Fogékony-sági osztály (0-5)
0	Egészséges, foltmentes levél és termés			0
0,1-3	Nagyon alacsony fertőzöttség			1
4-10	Alacsony fertőzöttség – elkülönülő kis foltok			2
11-25	Közepes fertőzöttség – elkülönülő nagy foltok			3
25-50	Erős fertőzöttség – összeért foltok			4
>51	Nagyon erős fertőzöttség – deformált levél és termés			5

Forrás: Saját szerkesztés Hunter és Roberts, 1978; Solar *et. al.*, (2012) alapján

4.2. A XANTOMONASZRA VALÓ FOGÉKONYSÁG VIZSGÁLATA MESTERSÉGES INOKULÁCIÓ ALAPJÁN

4.2.1. NÖVÉNYANYAG

2010-től 2013-ig végzett vizsgálatok során az 11. táblázatban felsorolt fajták és szelekciók fogékonyságának mértékét értékeltük a ‘Pedro’ mérsékelten rezisztens (mR) és a ‘Milotai intenzív’ nagyon fogékony (hS) kontroll fajtákkal való összehasonlításban. A termésmintákat az *endocarpium* megszilárdulása előtt, júniusban gyűjtöttük be Pölöskeről, a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉbih) Fajtakísérleti Állomásáról és Erdélyből.

11. táblázat. A vizsgálatba vont fajták és szelekciók

Fajta/Szelekció	Szülőfajta	Származás
Hartley	Franquette x Mayette ^a	USA
Pedro	Conway Mayette x Payne ^a	USA
Milotai 10	szelekció	HU
Alsószentiváni 117	szelekció	HU
Alsószentiváni 118	szelekció	HU
Milotai intenzív	Milotai 10 x Pedro ^b	HU
Milotai kései	Milotai 10 x Pedro ^b	HU
Milotai bőtermő	Milotai 10 x Pedro ^b	HU
Alsószentiváni kései	Alsószentiváni 117 x Pedro ^b	HU
Bonifác	Alsószentiváni 117 x Pedro ^b	HU
M-10-25	Milotai 10 x Pedro ^b	HU
SZEN-10	szelekció	RO (Szentkatolna)
ALB-22	szelekció	RO (Kézdiabíbis)
FFA-11	szelekció	RO (Futásfalva)
OZSD-37	szelekció	RO (Ozsdola)
SAR-33	szelekció	RO (Kézdisárfalva)
SOM-50	szelekció	RO (Somosd)
SOM-90	szelekció	RO (Somosd)
SOM -101	szelekció	RO (Somosd)
SOM-120	szelekció	RO (Somosd)
SOM-274	szelekció	RO (Somosd)

^aTulecke és McGranahan, 1994

^bSzentiványi, 1990

4.2.2. BAKTÉRIUMTÖRZSEK

IZOLÁLÁS

A xantomonaszos tüneteket mutató növényi részeket Magyarország és Erdély különböző diótermesztő helyeiről gyűjtöttük. A kórokozó azonosítását morfológiai, biokémiai és fiziológiai tulajdonságai alapján végeztük, a patogenitási teszteket a BCE Gyümölcstermő Növények Tanszék

akkreditált Erwinia laboratóriumában végeztük. Összesen 61 *Xaj* izolátumot vizsgáltunk. Ezek jellegzetes tenyészbélyegeik (sárga pigment termelés, sima, nyálkás, domború kolónia típus (9. melléklet), a glükózt oxidatív úton bontják) alapján lettek kiválasztva. Az azonosításuk után a Budapesti Corvinus Egyetem Élelmiszertudományi Kar Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteménye génbankba lettek elhelyezve (<http://ncaim.uni-corvinus.hu>) (10. melléklet).

HIPERSZENZITÍV REAKCIÓ

A patogén izolátumokat a hiperszenzitív reakciót indukáló képesség vizsgálatával 5×10^7 sejt mL^{-1} ($\text{OD}_{570\text{nm}} = 0,1$ (optikai sűrűség) töménységű baktériumszuszpenzióval ellenőriztük dohánylevélbe (*Nicotiana tabacum* L.) (7.A ábra) (Klement, 1963) és babhüvelybe (*Phaseolus vulgaris* L.) injekciózva (7.B ábra), valamint a patogenitási tesztet éretlen dióterméseken (8. ábra) ellenőriztük.



7. ábra. *Xaj* izolátumok hiperszenzitív reakciója dohánylevélen (A) és babhüvelyen (B) (Fotó: Bandi Attila)



8. ábra. Patogenitási teszt eredménye éretlen dióterméseken (Fotó: Bandi Attila)

4.2.3. A FERTŐZÉSHEZ HASZNÁLT IZOLÁTUMOK (MAGYARORSZÁGI ÉS ERDÉLYI) BIOKÉMIAI TULAJDONSÁGAINAK VIZSGÁLATA

A begyűjtött izolátumok virulenciájának értékelését követően egy magyarországi és egy erdélyi diótermés zöld burkáról származó, azonosan erős mértékű megbetegedést (virulenciát) mutató izolátumot (B.02490 (HU), B.02489 (RO)) választottunk ki a részletes biokémiai értékelésekhez és a mesterséges fertőzésekhez. Kontrollként az NCPPB 411 (NZ) törzset használtuk, melyet D.W. Dye Új-Zélandon izolált 1956-ben és az Egyesült Királyság York-i Növény Kórokozó Baktériumok Nemzeti Gyűjteményében (NCPPB) tárolják, valamint a BCE Élelmiszertudományi Kar Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményében (Budapest, Somlói út 14-16; <http://ncaim.uni-corvinus.hu>) is megtalálható (NCAIM gyűjteményi száma: B.01395). Az NCPPB 411 (NZ) típus-törzset korábbi kísérletek során a *Xaj* referencia törzseként alkalmazzák (Scortichini *et al.*, 2001; Marcelletti *et al.*, 2010; Moragrega, 2012).

A biokémiai elemzések során a különböző szubsztrátok szénforrásként történő hasznosítását API 20 NE és API 50 CH kitek (bioMérieux, France) segítségével végeztük el a gyártó előírásait követve:

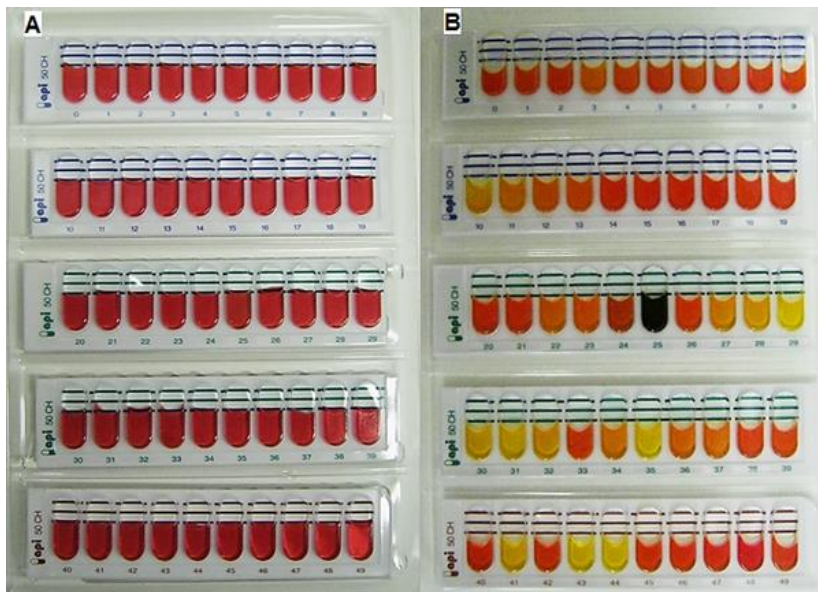
- az API 20NE dehidratált szubsztrátokat tartalmazó 20 mikrocsőből áll (9. ábra). Az inokuláláshoz Nutrient agar táptalajon fejlődött 24 órás tenyészetről API 0,85%-os sóoldat és API AUX médium használatával $1,5 \times 10^8$ sejt mL⁻¹ (OD_{570nm} = 0,25 (optikai sűrűség) töménységű baktérium szuszpenziót készítettünk. A beoltott tesztek 28 °C-on inkubáltak. Az értékelést 24 és 48 óra elteltével végeztük.



9. ábra. API 20 NE teszt (Biomérieux, France) (Fotó: Bandi Attila)

- az API 50 CH kit színváltozás megfigyelésén alapszik: ha az adott baktérium hasznosítja az adott szénhidrátot (cukorból savat képez), akkor az eredeti piros színű oldat sárgára változik, míg a zselatinbontás esetében pozitív teszt során elfolyósítja a zselatint (fehérjebontás) és fekete színreakció lép fel (10. ábra). Az inokuláláshoz Nutrient agar táptalajon fejlődött 24 órás tenyészetéről API 50 CHB/E médium használatával 6×10^8 sejt mL⁻¹ (OD_{570nm} = 0,5 (optikai sűrűség) töménységű baktérium szuszpenziót készítettünk. A beoltott tesztek 28 °C-on inkubáltak. Az értékelést naponta végeztük,

rögzítve a szénhidráthasznosítás mértékét és ütemét a bekövetkező színváltozások alapján hat napon keresztül.



10. ábra. API 50 CH teszt

A: a beoltás után 0 h;

B: a beoltás után 144 h (a színváltozás a szénhidrát hasznosítást jelöli)

0: kontroll;

1-49: különböző

szénhidrátok

(Biomérieux, France)

(Fotó: Bandi Attila)

A keményítő-hidrolizáló képesség elemzését 2,8%-os Nutrient agaron 0,2% mennyiségű vízdoldható keményítő hozzáadásával végeztük. Petri-csészénként három izolátumot oltottunk le. Ezután 27 ± 1 °C-on 48 órát inkubáltuk, majd 1%-os kálium-jodid oldattal leöntöttük. A szintelen bontási zónák kiterjedését értékeltük (11. ábra).



11. ábra. A *Xaj* izolátumok keményítő hidrolizáló képességének kimutatása

(Fotó: Bandi Attila)

Az izolátumok rézrezisztencia vizsgálatát *agardiffúziós lyukteszt* módszerrel (lásd 3.4.3 fejezet) ellenőriztük 0,15%, 0,25%, 0,35%-os rézhidroxid hatóanyag-tartalmú növényvédőszer oldatát pipettázva a 10 mm átmérőjű lyukakba (12. ábra).



12. ábra. Az izolátumok rézrezisztencia vizsgálata agardiffúziós lyukteszt módszerrel
(Fotó: Bandi Attila)

4.2.4. BAKTÉRIUMSEJT-SZUSZPENZIÓ ELŐÁLLÍTÁSA

A mesterséges fertőzésekhez a magyarországi B.02490 (HU) és erdélyi B.02489 (RO) izolátumokat keverékben használtuk. A baktériumszuszpenzió elkészítéséhez 24 órás tiszta tenyészeteket használtunk. A megfelelő sejtkoncentrációt steril desztillált vízzel $OD_{570nm}=0,2$ (optikai sűrűség) töménységűre állítottuk be spektrofotométerrel, mely kb. 1×10^8 sejt mL^{-1} sejtszámnak felel meg.

4.2.5. INOKULÁCIÓ

A fogékonysági vizsgálatokat Özaktan *et al.* (2008b) módszere alapján végeztük. A vizsgálatához fajtánként/szelekciónként 30-30 éretlen termést szedtünk (20 termést a mesterséges fertőzéshez, illetve 10 termést a kontroll kezeléshez). A fertőzést termésenként 5-5 darab $0,5 \text{ cm}^2$ nagyságú inokulációs terület beinjekciózásával végeztük, $20 \text{ } \mu\text{L}$ szuszpenziót bejuttatva szúrás helyenként. Ezáltal fajtánként/szelekciónként 100 db inokulált terület (20 termés \times 5 inokuláció termésenként) értékelésével lehetővé vált a fogékonyság megállapítása.

A kontroll kezeléshez a terméseket steril desztillált vízzel kezeltük. Az inokulált terméseket zárt, átlátszó műanyag dobozokba helyeztük, a szükséges páratartalom (85%) és hőmérséklet ($26-28^\circ\text{C}$) biztosítása céljából.

4.2.6. A TERMÉSEK FOGÉKONYSÁGÁNAK FELMÉRÉSE

A terméseket a fertőzés után folyamatosan figyeltük, majd a tizedik napon összesítettük a tüneteket. A fajtánkénti átlagos foltátmérő meghatározása céljából a kialakult nekrotikus foltok kiterjedését számítógéphez csatlakoztatható, Mitutoyo CD-15APX típusú digitális tolómérő segítségével $0,01 \text{ mm}$ -es pontossággal mértük. A fogékonyság mértékének meghatározásához az összes inokulációs pont körül kifejlődött és ki nem alakult tüneteket egyaránt figyelembe vettük.

Ennek alapján a nekrotikus foltátmérő adatait felhasználva Özaktan *et al.* (2008b) által kidolgozott ötfokozatú skála segítségével megkaptuk a fertőzési indexet (12. táblázat).

12. táblázat. A tünetek erősségének értékelése az éretlen diótermések mesterséges fertőzése alapján

Tünettípus / Nekrotikus foltok átmérője (mm)	Termésminta	Fertőzési index
Tünetmentes termés;		0
A foltok átmérője kisebb, mint 1,00 mm; az inokulációs pont körül felszínes diffúz folt;		1
A nekrotikus foltok átmérője 1,01 mm és 2,00 mm között változik;		2
A nekrotikus foltok bemélyednek, átmérőjük 2,01 mm és 5,00 mm között alakul;		3
A besüppedő, kráterszerű nekrotikus foltok átmérője nagyobb, mint 5,00 mm;		4

Forrás: Saját szerkesztés Özaktan *et al.* (2008b) alapján

A fertőzöttségi skála adatainak felhasználásával - a korábbi szakirodalmi források által kidolgozott képletek alapján- különböző mutatókat képeztünk. A betegség súlyosságát tükröző mutatóként, a fertőzési skála adatainak felhasználásával, Bertrand és Gottwald (1986) következő képletével meghatároztuk a fertőzöttség mértékét (F_m). E módszer lehetővé tette a fajták/szelekciók fogékonyságának megállapítását.

$$F_m = \sum(a_i \times f_i) / n$$

F_m – fertőzöttség mértéke a termésen;
 a_i - az egyes fertőzöttségi skálaérték (fertőzöttség intenzitása);
 f_i - az egyes skálaérték gyakorisága (fertőzöttség gyakorisága);
 n – fajtánként vizsgált összes termés száma;

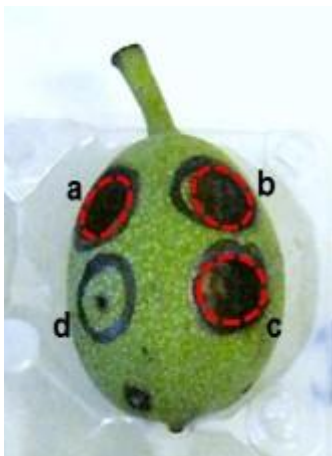
4.3. A FERTŐZÉS ÉLETTANI HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA

4.3.1. MINTASZEDÉS HELYE ÉS IDŐPONTJA

Az éretlen diótermés mintákat a termékenyülést követően 45 nappal (Gf+45) (13. melléklet) Pölöskéről, a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉbih) Fajtakísérleti Állomásáról és Erdélyből szereztük be. A vizsgálathoz az előző évek fertőzési eredményei alapján a mérsékelt fogékony ('Hartley'), nagyon fogékony (ALB-22), valamint két mérsékelt rezisztens fajtát ('Milotai kései', 'Pedro') fertőztünk. A mesterséges fertőzéseket a minta megszedésétől számolva 24 órán belül elvégeztük.

4.3.2. MINTAELŐKÉSZÍTÉS A FENOLVEGYÜLETEK HPLC-S MEGHATÁROZÁSÁHOZ

A fertőzés hatására bekövetkező biotikus stressz-válasz követésére az inokulációs pont körül a zöldburok szöveteiből (*exocarpium* és *mezocarpium*) (14. melléklet) dugófúróval (10 mm \varnothing) mintát vettünk (13. ábra) a fertőzés után 0, 24, 96, 216 óra elteltével. Az adott mintavételezési időpontban fajtánként három-három ismétlést különítettünk el. Ismétlésenként a termésekből mind a fertőzött, mind a kontroll kezelés esetében hat-hat 10 mm átmérőjű korongot szedtünk.



13. ábra. Mintavételezési helyek (a, b, c, d) az éretlen diótermés *exo*- és *mezocarpium*ából HPLC vizsgálathoz.
Forrás: Saját ábra

A zöldburok korongokat dörzsmozsárban folyékony nitrogénnel homogenáltuk, majd az extrakció céljából 5 ml 1%-os butilált hidroxitoluén (BHT) metanol oldatban tároltuk -20 °C-on a HPLC mérésekig. A BHT-t az extrakció alatti esetleges oxidáció elkerülése céljából adtuk hozzá. A minták extrakcióját Eppendorf csövekbe pipettáztuk, majd 5 percen keresztül 15000 fordulat/perces fordulatszámon centrifugáltuk (Hettich Mikro 22R). Ezt követően a felülúszót kipipettáztuk, majd 0,45 μ m átmérőjű MILLEX®-HN Syringe Driven Filter Unit (SLHV 013 NL, PVDF Durapore, Millipore Co., MA, USA) szűrőn átszűrtük.

4.3.3. FELHASZNÁLT VEGYSZEREK

Különböző fenolvegyületek analitikai HPLC tisztaságú standardjait (13. táblázat), illetve a foszforsav (H_3PO_4) és a metanol (MeOH) oldószereket a Sigma Aldrich Chemical Kft-től szereztük be.

13. táblázat. A vizsgálatba vont fenol standardok

Sorszám	Standard	Elemi összetétel	CAS szám	Retenciós idő
1.	Fahéjsav	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2$	[140-10-3]	2,3'
2.	Galluszsav	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$	[149-91-7]	3,2'
3.	Pirokatekin	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_2$	[120-80-9]	6,8'
4.	Protokatekin	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$	[99-50-3]	7,6'
5.	(+)-Katekin	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$	[154-23-4]	9,7'
6.	Klorogénsav	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	[327-97-9]	11,4'
7.	Vanilinsav	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$	[121-34-6]	11,8'
8.	(-)-Epikatekin	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$	[490-46-0]	12,5'
9.	Sziringasav	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$	[530-57-4]	12,9'
10.	Rutin	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	[153-18-4]	17,9'
11.	Kvercetin 3-glükozid	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	[482-35-9]	18,1'
12.	Kvercitrin	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	[522-12-3]	19,4'
13.	Juglon	$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{O}_3$	[481-39-0]	20,5'
14.	Kvercetin	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	[117-39-5]	23,0'

A mérésekhez az eluens készítés során HPLC tisztaságú metanolt (CAS szám: [67-56-1]) és Milli-Q vizet használtunk. A standardokat 0,5 g/50 ml törzsoldatot 100-szeresére hígítva mértük be és HPLC-vel analizáltuk.

4.3.4 A FENOLVEGYÜLETEK HPLC-S MÉRÉSÉNEK ANALITIKAI KÖRÜLMÉNYEI

A Waters gyártmányú HPLC (Waters Co., 34 Maple street, Milford, MA, USA) 2487 Dual Detectorral, 1525 Binary HPLC pumpával, oszloptermosztáttal (40 °C-ra beállítva), 717plus automata injektor (a mintatartó tér hőmérséklete: 5 °C) szerelt nagynyomású folyadék kromatográfot EMPOWERTM2 szoftver vezérelte.

Az elválasztás szintén a KINETEX C18-as 2,6 µm 150X4,6 mm oszloppal (Phenomenex 411 Madrid Avenue Torrance, CA 90501-1430 USA) történt.

A mozgó fázisok összetétele a következőképpen alakult A: H₂O: MeOH: H₃PO₄ = 940 : 50 : 1, B: MeOH (0-30 perc: A 100%-10%, 30-30,1 perc: 10%-100%, 30,1-31: A 100%). Az áramlási sebesség 1ml/perc volt, az oszlop nyomás 4200±10psi 30 °C-on. Az injektálási mennyiség 20µl volt. A minta lemérése 32 percig tartott. A mintákat 280 és 350 nm tartományban mértük, az eredményeinket 280 nm-en értékeltük (15. melléklet). A mérések megbízhatóságának növelése érdekében kezelésként minden mintavételezési időpontban három-három ismétlést futtattunk. Az eredményeket a standard csúcs alatti területe, a minta csúcs alatti területe, a hígítások és a bemérés figyelembevételével számoltuk, és mg/100 g FW (nyers tömegre) vonatkoztatva adtuk meg, az eredeti minta szerint.

A méréseket a BCE Gyümölcstermő Növények Tanszék HPLC laboratóriumában végeztük Dr. Végvári György irányításával.

4.4. FENOLVEGYÜLETEK KÖZVETLEN ANTIBAKTERIÁLIS HATÁSÁNAK *IN VITRO* VIZSGÁLATI MÓDSZERE

A vizsgálatba vont fenolvegyületekből (juglon [481-39-0], galluszsav [149-91-7], protokatekin [490-79-9], vanilinsav [121-34-6], sziringasav [530-57-4], pirokatekin [120-80-9], klorogénsav [327-97-9], (+)-katekin [154-23-4], (-)-epikatekin [490-46-0], rutin [153-18-4], fahéjsav [140-10-3]) külön-külön 1 mg mennyiséget 200 µl DMSO-ban feloldottunk, majd 3 ml steril desztillált vizet adtunk hozzá. Ezt követően 700 µl baktériumsejt-szuszpenzióval (B.02490 (HU) izolátum) egészítettük ki. A baktériumsejt-szuszpenzió koncentrációját steril desztillált vízzel OD_{570nm}=0,6 (optikai sűrűség) töménységűre állítottuk be, mely kb. 3×10⁸ sejt mL⁻¹ sejtszámnak felel meg. A színváltozás észlelése és műszeres méréséhez kontrollként fenolvegyület nélküli kezelést alkalmaztunk. A juglon esetében a színváltozás helyes észlelése érdekében saját kontrollt használtunk, melyhez nem adtunk baktérium szuszpenziót. Az eredmények (5.5.1. fejezet) közzétett 41. ábrán csillaggal jelöltük. Ezen megoldás szükségességét az a tény indokolta, hogy a juglont a többi vizsgálatba vont fenolvegyületektől eltérően egy sajátos sárga, sárgásnarancssárga szín jellemzi.

A festést egy óra elteltével végeztük. A fenolvegyületek antibakteriális hatásának láthatóvá tételére a.r. tisztaságú MTT (3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazólium bromid) vitális festék reagenst alkalmaztunk. Fenolvegyületenként az MTT steril desztillált vizes 0,08%-os oldatából 800 µl mennyiséget adtunk hozzá.

Az élő sejtek képesek redukálni a sárga MTT-t kék színű MTT-formazánná. Az élő sejtek száma és az MTT-formazán termelés, azaz a kék szín intenzitása között lineáris összefüggés van (Stowe

et al., 1995). Ebből következik, hogy a sárga szín (színváltozás elmaradása) sejtszaporodás (anyagcsere) gátló, míg a sötétebb szín élő sejt jelenlétet jelez.

4.4.1. A SZÍNVÁLTOZÁS MÉRÉSE A SZÍNKOORDINÁTÁK MEGHATÁROZÁSÁVAL

A színekoordináták mérését a festés után közvetlen, illetve 16 óra múlva végeztük. A színváltozás mértékét (L^* , a^* , b^* koordinátáit) Konica Minolta CR-400 típusú tristimulusos színmérő műszerrel (14. ábra) határoztuk meg. A mérési adatokat a készülék memóriájából RS232 soros porton keresztül számítógépre töltöttük le.

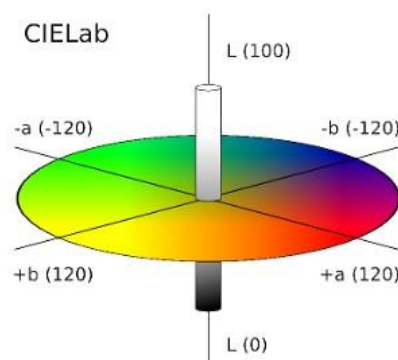
A CIE (Comission Internationale de la Éclargie) 1931-es szabványa szerint a szín egy 3D színtérben elhelyezett koordinátákkal (L^* , a^* , b^*) leírható (15. ábra). Az L^* CIE rendszerben a fényesség vagy világosságra vonatkozó elem, ami 0-100 között mozog ($L^* = 0$ fekete és $L^* = 100$ színtelen), míg a^* (zöldtől piros színig; $a^* < 0$ zöld, $a^* > 0$ piros,) és b^* (kéktől sárga színig, ($b^* < 0$ kék, $b^* > 0$ sárga) két kromatikus elemek, -120 és +120 közötti értékekkel (Yam és Papakadis, 2004).

A CIE $L^*a^*b^*$ rendszer megegyező CIE $L^*C^*h^*$ (L-világossági tényező, C^* -színtelítettség, h-színárnyalat).

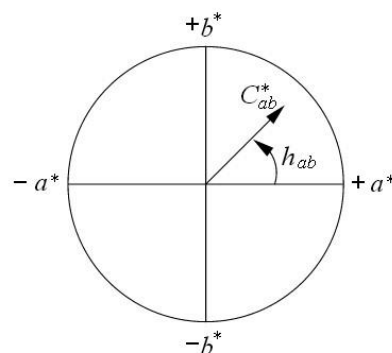
A színekülönbségek számolásánál $L^*a^*b^*$ poláris koordinátarendszerű felírási módját a CIE $L^*C^*h^*$ modellt alkalmaztuk, amely az emberi színlátásnak megfelelő világosság (lightness) – élénkség (chroma) – színárnyalat (hue) paramétereken alapszik. A króma értéket a $C^*_{ab} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ képlet segítségével, míg a színárnyalat értékeit a $h^*_{ab} = \arctg b^*/a^*$ (McLaren, 1976; Kheng, 2002) (16. ábra).



14. ábra. A Konica Minolta CR-400 tristimulusos színmérő készülék
<http://www.konicaminolta.com/>



15. ábra. A színmérési koordináták ábrája a CIE (Comission Internationale de la Éclargie) szerint (CIE, 1976)



16. ábra. A CIE $L^*a^*b^*$ színtér a^* , b^* síkjában értelmezett színtelítettségi jellemző (C^*_{ab}) és színezeti szög h^*_{ab} (Leow, 2002)

A fenolvegyületek által befolyásolt színváltozás meghatározását a teljes színkülönbséggel (ΔE^*) jellemeztük:

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta C_{ab}^*)^2 + (\Delta H_{ab}^*)^2]^{1/2}$$

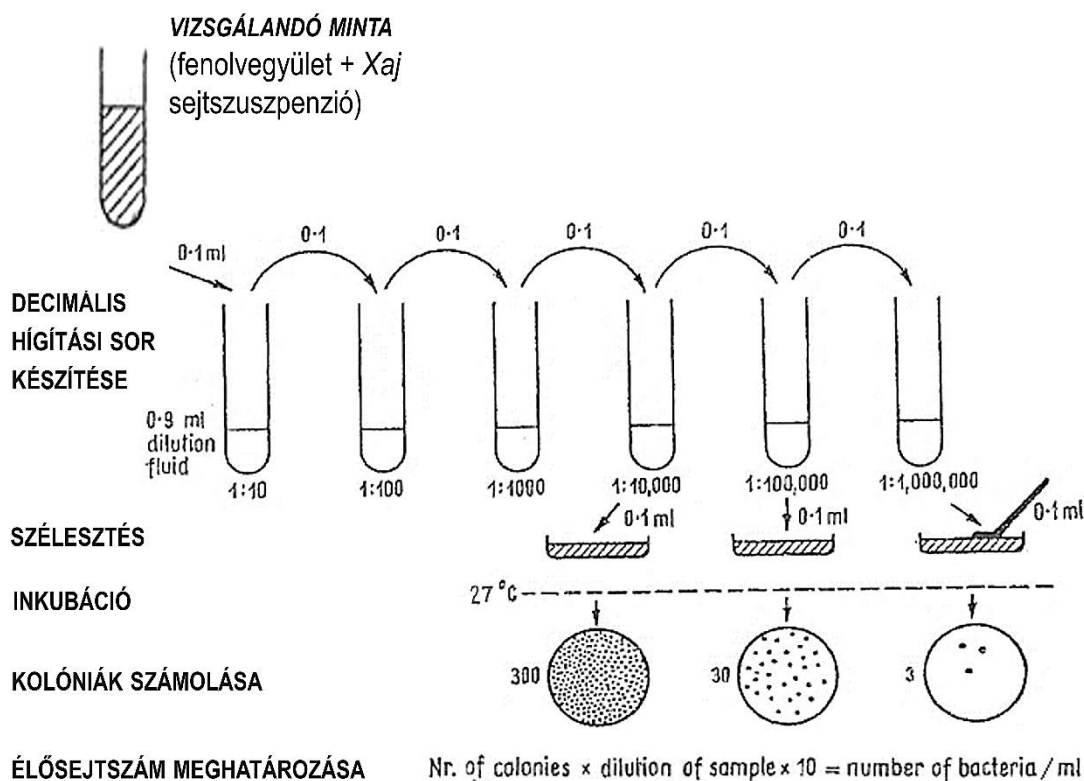
ahol,

$$\Delta C_{ab}^* = \Delta C_{ab,1}^* - \Delta C_{ab,0}^* = (a_1^{*2} + b_1^{*2})^{\frac{1}{2}} - (a_0^{*2} + b_0^{*2})^{\frac{1}{2}}$$

$$\Delta H_{ab}^* = [(a_1^* + a_0^*)^{\frac{1}{2}} + (b_1^* + b_0^*)^{\frac{1}{2}} - (\Delta C_{ab}^*)^2]^{1/2}$$

4.4.2. AZ ANTIBAKTERIÁLIS HATÁS IGAZOLÁSA LEMEZÖNTÉS MÓDSZERREL

A fenolvegyületek antibakteriális hatását a baktériumsejtek visszaizolálásával is követtük. Az inokuláció után fenolvegyületenként 0 óra, 10 perc, 1 óra, 4 óra és 24 óra múlva tízes lépték szerint hígítási sort készítettünk (17. ábra). A hígításokból 100 μ l-t King-B agarra felcseppentettük, majd steril szélesztő üvegbot segítségével egyenletesen szélesztettük. A telepszámok pontos meghatározása céljából hígításonként három párhuzamos tenyészetet készítettünk. A Petri-csészéket 27 ± 1 °C-on 48 órát inkubáltuk, majd a kifejlődött kolóniákat megszámoltuk. A telepszám értékeléséhez a polimixin és kontroll kezelés (fenolvegyület nélküli kémcső) baktérium szuszpenzió inokulumaiból fejlődött telepszámokat vettük figyelembe.



17. ábra. Hígítási sor készítése élősejtszám meghatározáshoz

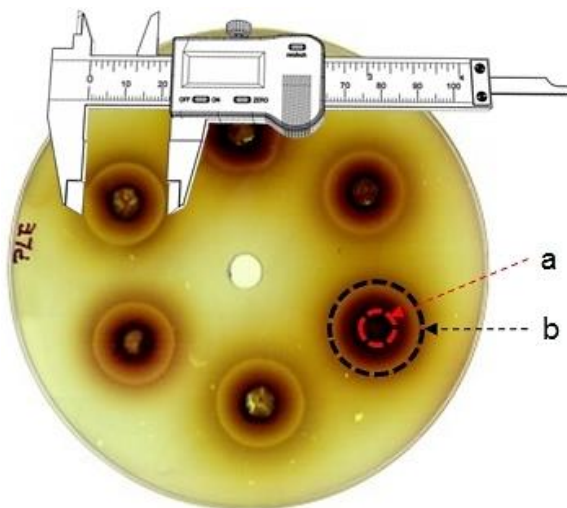
Forrás: Klement *et al.* (1990)

4.4.3. A ZÖLDBUROK-SZÖVETNEDV ANTIBAKTERIÁLIS HATÁSÁNAK VIZSGÁLATI ELJÁRÁSA

Eltérő fogékonysággal rendelkező diófajták és típusok ('Hartley', 'Pedro', 'Alsószentiváni 118' 'Milotai kései', M-10-25, OZSD-37, SZEN-10, ALB-22, SOM-101) zöldburok szövetnedvének antibakteriális hatását vizsgáltuk agardiffúziós lyukteszt módszer alkalmazásával. A zöldburok korongokat dugófúróval ($\varnothing=10\text{mm}$) a fertőzési hely körüli burokrészből emeltük ki, majd a korongokat kipréseltük. A lyukakba töltött szövetnedvet fertőzés nélküli, illetve fertőzött zöldburok korongokból fertőzés után tíz nappal préseltük.

A kísérletben az általunk izolált és a mesterséges fertőzésekhez alkalmazott B.02490 (HU) és a B.02489 (RO) izolátumokat, illetve kontrollként az NCPPB 411 (NZ) törzset használtuk.

A kísérlethez steril műanyag Petri-csészékbe ($\varnothing=85\text{mm}$) 15 ml 2%-os Nutrient agart öntöttünk, amely megdermedve 4,5 mm magasságot foglal el. Steril desztillált víz felhasználásával 24 órás tenyészetekből spektrofotométerrel $\text{OD}_{570\text{nm}}=0,05$ (optikai sűrűség) töménységű szuszpenziót készítettünk, mely kb. 10^7 sejt/ml sejtszámnak felel meg. Ezt követően 1%-os 45°C -ra visszahűtött Nutrient agarhoz 3:1 arányban hozza adtuk a baktérium szuszpenziót. Az így kapott 0,75%-os agart a 2%-os szilárd agar tetejére öntöttük, majd dermedés után dugófúróval ($\varnothing=10\text{mm}$) lyukakat képeztünk. A dermedés után a lyukakba (18. ábra/a) 400 μl mennyiségű zöldburok szövetnedvet pipettáztunk, majd két óráig 5°C -ra hűtőbe helyeztük, hogy a diffúziót elősegítsük. Ezután $27\pm 1^\circ\text{C}$ -on 18 órát inkubáltuk. A lyukak körül kialakult gátlási zónákat (18. ábra/b) digitális tolómérővel (Mitutoyo CD-15APX) 0,01mm-es pontossággal mértük. Kezelésenként három-három ismétlést alkalmaztunk.



18. ábra. Antibakteriális hatás vizsgálata agardiffúziós lyukteszt módszerrel

a: dugófúróval ($\varnothing=10\text{mm}$) készített lyukak;

b: a lyukak körül kialakult kioltási zóna

Forrás: Saját ábra

ÖSSZES POLIFENOL-TARTALOM MEGHATÁROZÁSA

Az összes polifenol-tartalmat galluszsavra (GS) vonatkoztatva határoztuk meg Singleton és Rossi (1965) spektrofotometriás módszerével a Gyümölcstermő Növények Tanszék Gyümölcsanalitikai laboratóriumában Dr. Ficsek Gitta irányításával.

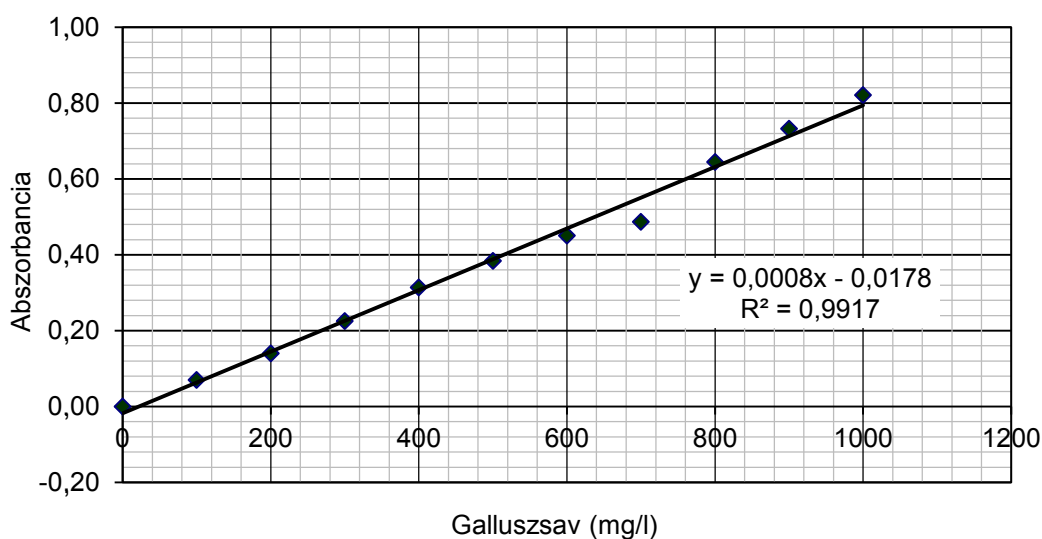
A szükséges reagensek: metil-alkohol (CAS szám: [67-56-1]) és desztillált víz (Me-OH:DV) 4:1 arányú keveréke; Folin-Ciocalteu fenol reagens; 0,7 M-os nátrium-karbonát (Na_2CO_3) (CAS szám: [497-19-8]) oldat; 0,3 M-os galluszsav (CAS szám: [149-91-7]) oldat (metil-alkohol és desztillált víz 1:4 arányú elegyével hígítva).

A mérés előtt galluszsavra kalibrációs görbét készítettünk (19. ábra). A fagyasztott zöldburok-présnedvet felengedtetés után Hettich EBA 21 laboratóriumi centrifugával 15000 fordulatszámon 5 percig centrifugáltuk, majd a szükség szerint hígított felülúszóból határoztuk meg az összes polifenol-tartalmat. 0,5 ml mintát 50 ml-es mérőlombikba mértünk, hozzáadtunk 25 ml desztillált vizet, 2,5 ml Folin- Ciocaltens reagenst, miközben alaposan összeráztuk. Majd 30 másodperc elteltével, de 8 perc előtt 7,5 ml 20%-os Na_2CO_3 oldatot adtunk hozzá, és desztillált vízzel jelíg töltöttük. 2 órát állni hagytuk, ezt követően Hitachi U-2800A Spektrofotométeren mértük az abszorbanciát vak oldattal szemben (0,5 ml minta helyett desztillált vizet használunk) 765 nm hullámhosszon. A mért abszorbanciából a kalibrációs görbe segítségével határoztuk meg az összes polifenol-tartalmat a kalibrációs görbe egyenlete ($A = a \times c_{\text{minta}} + b$) alapján.

$$\text{Polifenol (mg GS/l)} = \frac{A - b}{a}$$

A = 765 nm-es hullámhosszon mért abszorbancia érték

a, b = a kalibrációs görbe paraméterei



19. ábra. A kalibrációs függvény alapján meghatározott egyenes

4.5. STATISZTIKAI ÉRTÉKELÉS MÓDSZEREI

A termésmorfológiai tulajdonságok biostatistikai értékelése esetén az átlag (\bar{X}) statisztikai próbái alapján értékeltük és hasonlítottuk össze a különböző tájegységek populációját. Így az átlag és annak standard hibája (SE), valamint a diópopulációk homogenitásának/heterogenitásának megállapítása érdekében a variációs koeficiens (CV) értéke alapján határoztuk meg. Ennek alapján az adott tulajdonság szerint az állományt igen homogénnek tekintettük a $CV\% < 10,0\%$, homogénnek a $CV\% = 10,0-20,0\%$, heterogénnek pedig a $CV\% > 20,0\%$ (Sváb, 1981).

Az adatok további statisztikai értékelését a *PASW Statistics 20* programcsomaggal végeztük. A statisztikai elemzést a minta elemszám nagysága, az eloszlásvizsgálat (Kolgomorov-Smirnov teszt), valamint a szórások azonossága (Levene-teszt), alapján határoztuk meg. Amennyiben teljesült a normalitás feltétele és az adatsor homogénnek bizonyult paraméteres eljárás közül Tukey HSD teszt, ha a szórás homogenitás nem teljesült, Games Howel próbát alkalmaztunk a különbségek ellenőrzésére. Nem normális eloszlás esetén Kruskal-Wallis nemparametrikus teszttel elemeztük, majd a páronkénti összehasonlításhoz Mann-Whitney próbát alkalmaztuk.

A korreláció-analízis vizsgálatokor Sajtos és Mitev (2007) szerint az alábbi módon értékeltük a két tulajdonság összefüggését (14. táblázat).

14. táblázat. A korrelációs együttható lehetséges értékei

r értéke	Kapcsolat iránya és erőssége
$r=1$	Függvényszerű lineáris kapcsolat
$0,7 \leq r < 1$	Erős pozitív kapcsolat
$0 < r < 0,2$	Gyenge pozitív kapcsolat
$-0,2 < r < 0$	Gyenge negatív kapcsolat
$-0,7 < r \leq -0,2$	Közepes negatív kapcsolat

A négy vizsgálati év foltátmérő és a fertőzöttség mértéke alapján a fajták fogékonysági csoportokba való besorolása céljából hierarchikus klaszteranalízist végeztünk. Az eredményt dendogramon ábrázoltuk.

A fenolvegyletek élettani hatásának statisztikai értékelése esetén, az ábrákon az adott időpontban a két kezelés közötti különbségek (normális eloszlás esetén függetlenmintás t-próba, normális eloszlás hiányakor Mann-Whitney U teszt) jelzése látható az alábbi módon: ***: $p \leq 0,001$; **: $p \leq 0,01$; *: $p \leq 0,05$ valószínűségi szinten szignifikáns, -: nem szignifikáns.

5. EREDMÉNYEK

5.1. ERDÉLYI DIÓPOPULÁCIÓK ÉRTÉKELÉSE PERSPEKTIVIKUS FAJTÁK KIEMELÉSE SZEMPONTJÁBÓL

5.1.1. DIÓÁLLOMÁNYOK TERMÉSMORFOLÓGIAI VARIABILITÁSA

A négy tájegység dióállománya a fontosabb termésparaméter értékek tekintetében igen széles intervallumot fog át. Legkisebb átlagos terméstömeget (4,55 g) Felső-Nyárádmentén található egyik termőfa adta, míg a legnagyobb tömegű termés (26,2 g) a Kis-Küküllő mentén fellelt termőfáról származik. A variációs koefficiens alapján jelentős heterogenitás mutatható ki a Felső-Háromszék (CV=24,85%), Kis-Küküllőmente (CV=22,7%), illetve Alsó- és Felső-Nyárádmente (CV=26,9%) diópopulációiban, a Marosmente dióállományának terméstömege viszont homogénabbnak bizonyult. A Marosmentén feltérképezett termőfák átlagos terméstömege (13,63±0,13 g) kiemelkedő, míg a legkisebb tömeg a Felső-Háromszéki állományt jellemzi (10,81±0,18 g). A különbség mind a négy populáció esetében szignifikáns ($p<0,05$).

A termések három fő méretparamétere (szélesség, vastagság, hosszúság) tekintetében mind a négy populáció kedvező átlagos értékekkel rendelkezik. Mindhárom fizikai tulajdonság tekintetében az állományok homogénnek tekinthetők (variációs koefficiens: 12,45%). Ez azt is jelenti, hogy a szélső értékkategóriákkal rendelkező termőfák jelen vannak a populációkban, azonban ezek aránya nem magas.

Az alakindex átlagértékek alapján megállapítható, hogy a populációkban közel azonos mértékben fordul elő mind az elliptikus, mind a gömbölyded termésalak. A terméshéj vastagsága széles értékintervallum között változik. Amennyiben termőfánkénti minták alapján végezzük az értékelést, akkor a legkisebb átlagos terméshéj vastagságot (0,85 mm) a Kis-Küküllőmenti állományból származó termésmintákon mértünk. Legnagyobb átlagértéket az Alsó- és Felső-Nyárádmenti populációból származó minta adta (3,23 mm). Törhetőség alapján azon termőfák termései értékesek, melyek *endocarpium* vastagsága nem haladja meg az 1,7 mm-t. A magbélarány a törési kihozatal szempontjából fontos. Áruérték szempontjából a 45% feletti érték a kedvező. A négy tájegység populációinak átlagos magbélarány (%) értéke 44,95% és 38,93% között változik. A legmagasabb variabilitást (Cv=15,7%) az Alsó- és Felső-Nyárádmenti diópopuláció esetében tapasztaltunk. A többi populáció esetében azonban szintén magas heterogenitást állapíthatunk meg. Mind a négy populációban fellelhetők olyan termőfák, melyek termésmintái 50% feletti magbélarányt adnak (15. táblázat).

15. táblázat. A diópopulációk leíró statisztikai jellemzői a termések fontosabb fizikai tulajdonságai alapján (Az oszlopokban az eltérő betűk a különböző tájegységek közötti szignifikáns különbséget jelölik. Tukey's teszt $p < 0,05$)

	Tömeg	Átmérő	Vastagság	Hosszúság	Alakindex	Csonthéj- vastagság	Magbél- arány	Térfogat
	(g)	(mm)	(mm)	(mm)		(mm)	(%)	(cm³)
<i>Felső-Háromszék</i> (n= 147)								
\bar{X}	10,81 a	31,00 b	31,73 c	37,32 c	1,19 a	1,91 b	44,95 a	19,60 c
SE	0,18	0,23	0,26	0,31	0,01	0,02	0,33	0,44
CV	24,85	11,02	12,23	12,45	11,68	14,65	10,73	33,02
<i>Kis-Küküllőmente</i> (n= 127)								
\bar{X}	12,87 b	32,04 a	33,73 ab	39,48 b	1,20 a	1,79 c	44,11 a	22,64 a
SE	0,14	0,11	0,15	0,21	0,01	0,02	0,29	0,26
CV	22,7	6,9	9,3	11,1	9,7	21,1	13,5	23,9
<i>Alsó- és Felső-Nyárárdmente</i> (n= 157)								
\bar{X}	11,80 c	31,17 b	33,42 b	38,74 b	1,20 a	2,18 a	38,93 c	21,57 b
SE	0,18	0,15	0,21	0,23	0,01	0,02	0,35	0,35
CV	26,9	8,2	11,2	10,4	8,6	18,9	15,7	28,3
<i>Maros-tere</i> (n= 221)								
\bar{X}	13,63 d	32,33 a	34,28 a	40,53 a	1,22 a	1,87 b	42,82 b	23,68 a
SE	0,13	0,11	0,15	0,22	0,01	0,02	0,29	0,24
CV	16,4	5,8	7,6	9,5	9,2	16,4	11,6	17,2

Megjegyzés: n= minta elemszáma

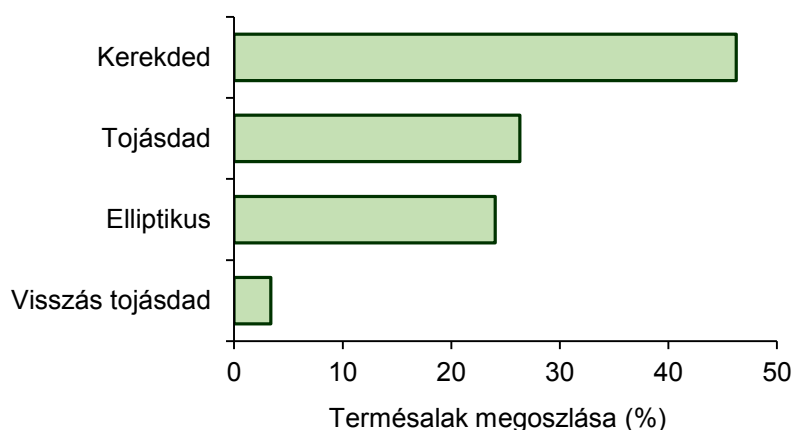
A négy tájegység termésmorfológiai adatait tekintve összességében a méretkategóriák szerinti csoportosítás alapján 63%-ban közepes méret (8-12 g közötti terméstömeg) jellemzi az állományokat. A 12 és 18 g közötti terméstömeg a populáció 25%-ában fordul elő. A fennmaradó részből a kisebb terméstömeg 9,6%-ot tesz ki (5-8 g). Természetesen előfordulnak óriás méretű termések, de azok aránya nem haladja meg a 2,4%-ot.

A termés szélesség megoszlása főleg a közepes termésméret (28-32 mm) felé tolódik el, melynek aránya 49,3%-ot tesz ki. Nagy termésmérettel (32-34 mm) rendelkező termőfák 28%-ban lelhetők fel. Az alacsony (<28 mm) és magas (>34) termés szélességértékekkel rendelkező termőfák aránya 12%, illetve 10,7%. A bélarány alapján négy csoportra bontva az állományok e tekintetbe való megoszlását azt tapasztaltuk, hogy 47% és 55% közötti magbélaránnyal rendelkező termőfák

25,75%-ban vannak jelen, míg a 40% és 47% közötti bélarány 43,14%-ot tesz ki. Az kifejezetten alacsony bélarány mutató termőfák aránya 30,46%.

TERMÉSSALAK ÉS TERMÉSHÉJ VASTAGSÁG

A vizsgált populációk termésalakjuk szerint négy csoportba sorolhatók (20. ábra). Leggyakoribb a kerekded, ezt követi a tojásdad és az elliptikus termésalak, valamint jóval kevesebb a visszás tojásdad alakú termés.



20. ábra. A termésalakok megoszlása a vizsgált diópopulációkban

A négy jellegzetes termésalak paramétereit tekintve a kerekded termések esetében (*forma rotunda*) a hosszúsága 2,79 cm és 4,75 cm között változik, míg az átmérő 2,43 cm és 4,40 cm között (4. melléklet). Az elliptikus alakú terméseknél (*forma elliptica*) a hosszúság 3,10–5,40 cm között, az átmérő pedig 2,28–3,79 cm között alakul (5. melléklet). A tojásdad alakú terméseknél (*forma ovata*) a hosszúság 2,85–5,66 cm, míg az átmérő 2,52–3,74 cm között változik (6. melléklet). A visszás tojásdad alakú terméseknél (*forma obovata*) a hosszúság 3,13–4,44 cm között alakul, és az átmérő 2,16–3,16 cm között van. A terméshéj felülete változatos külső formát mutat mind a négy alaknál (7. melléklet).

A magbélarány 41,31%-ot mutat a kerekded-, és 44,55% a visszás tojásdad alakú terméseknél. A különbség statisztikailag szignifikáns a visszás tojásdad alakúak esetében (16. táblázat).

16. táblázat. A magbélarány alakulása a különböző termésalakok szerint

Termésalak	Kerekded	Elliptikus	Tojásdad	Visszás tojásdad
Magbélarány (%)	41,31%	42,25%	42,36%	44,55%
Szignifikancia	–	–	–	*

Megjegyzés: *: $p \leq 0,05$ valószínűségi szinten szignifikáns; –: nem szignifikáns

A terméshéj vastagsága a vizsgált termésalakok esetében 1,29 millimétertől (kerekded termés alak), 1,75 mm között változik (elliptikus termésalak). A különbség statisztikailag szignifikáns a kerekded és az elliptikus termésalak esetében (17. táblázat).

17. táblázat. A terméshéj vastagsága a különböző termésalakok szerint

Termésalak	Kerekded	Elliptikus	Tojásdad	Visszás tojásdad
Csonthéj vastagság (mm)	1,29 mm	1,75 mm	1,57 mm	1,57 mm
Szignifikancia	**	*	–	–

Megjegyzés: **: $p \leq 0,01$; *: $p \leq 0,05$ valószínűségi szinten szignifikáns; –: nem szignifikáns

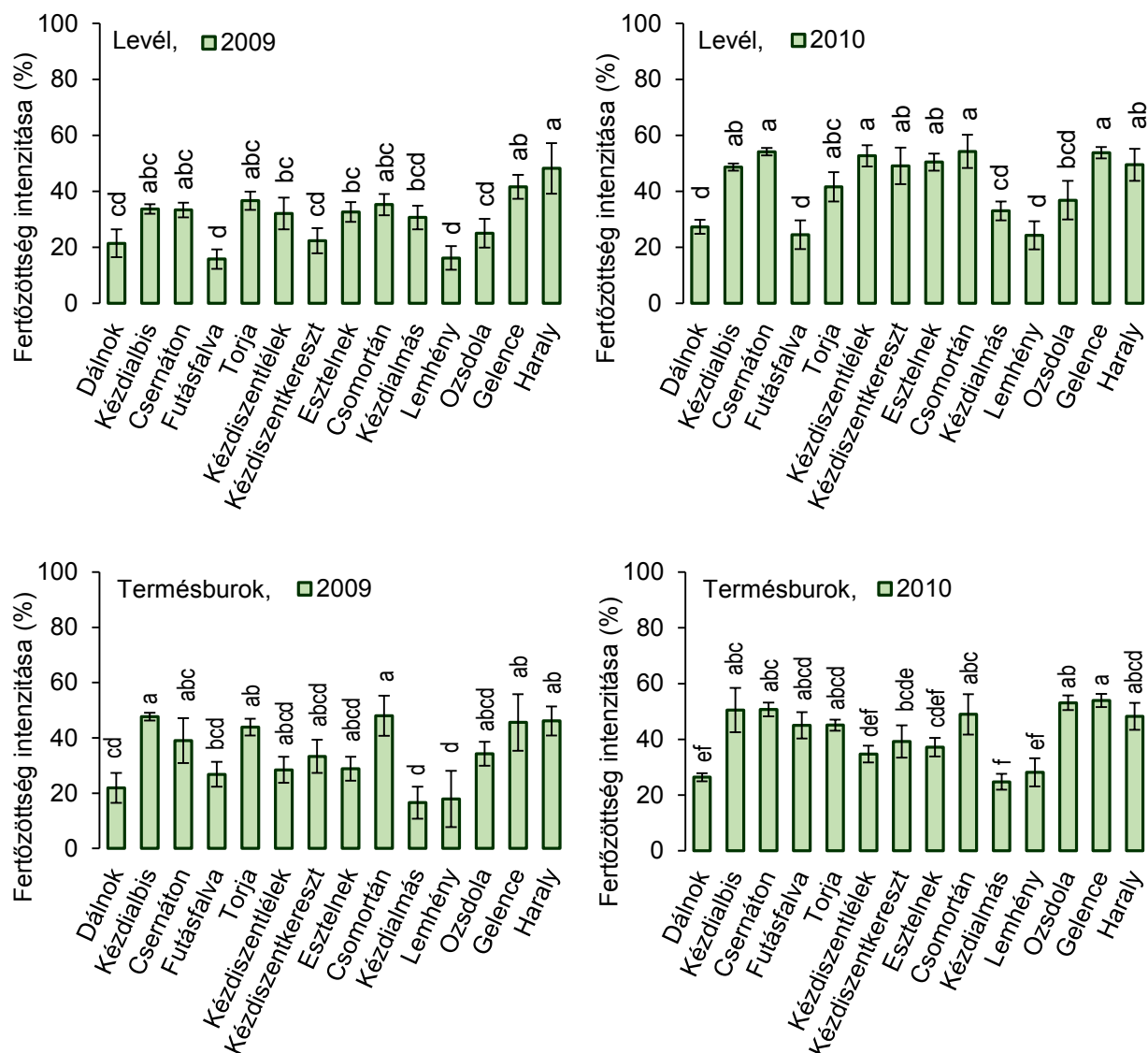
5.1.2. DIÓÁLLOMÁNYOK XANTOMONASZ BETEGSÉGRE VALÓ FOGÉKONYSÁGÁNAK VARIABILITÁSA SZABADFÖLDI FELMÉRÉSEK ALAPJÁN

A 4.1.2 fejezetben bemutattuk, hogy a két vizsgálatba vont évjáratot összehasonlítva a 2009-es vegetációs időszak extrém aszályosnak mondható, míg a 2010-es extrém csapadékos évjárat volt, melyhez a vegetációs időszak közepén magas átlaghőmérsékleti viszonyok társultak. Ezáltal az utóbbi évjárat kifejezetten kedvezőbb volt a dió xantomonaszos betegség kórokozójának.

A 2009-es felmérés adatai szerint összességében a vizsgált termőfák lombozata és termésburkának xantomonasz fertőzöttsége közel azonos volt (21. ábra). Az éretlen termések zöld burkának fertőzöttsége 3,52%-kal haladja meg a levelek fertőzöttségét. Mindkét növényi szerv esetében a településeket statisztikailag négy-négy homogén csoportra lehet osztani. A levélen felvételezett fertőzöttség átlagos intenzitása 20%-nál alacsonyabb Futásfalva és Lemhény települések termőfái esetében, míg a termésburok fertőzöttsége a Lemhény, illetve a Kézdialmás kataszteri területén fellelhető termőfák esetében hasonlóan alacsonynak bizonyult. A különbségek statisztikailag szignifikánsak a többi település termőfáinak fertőzöttségéhez viszonyítva ($p \leq 0,05$).

A 2010-es évjárat vegetációs időszakában lehullott nagy mennyiségű csapadék jelentős mértékben megnövelte a populáció xantomonasz fertőzöttségét. A termőfák lombozatának átlagos fertőzöttsége 2009-ben 15,78% (Futásfalva) és 48,22% (Haraly), a zöldburok esetében 16,57% (Kézdialmás) és 47,97% (Csomortán) között változik. 2010-ben a levelek fertőzöttsége 24,27% (Lemhény) és 54,29% (Csomortán), illetve a terméseké 24,76% (Kézdialmás) és 50,48% (Kézdialbis) között alakult.

A lombozat fertőzöttsége 2010-es átlagos értékeinek statisztikai vizsgálata alapján négy homogén csoport különíthető el. Lemhény, Futásfalva, Dálnok termőfái szignifikánsan alacsony lombfertőzöttséget mutattak a többi településhez viszonyítva ($p \leq 0,05$). Ugyanez a tendencia a 2009-es évjáratban szintén érvényes volt.



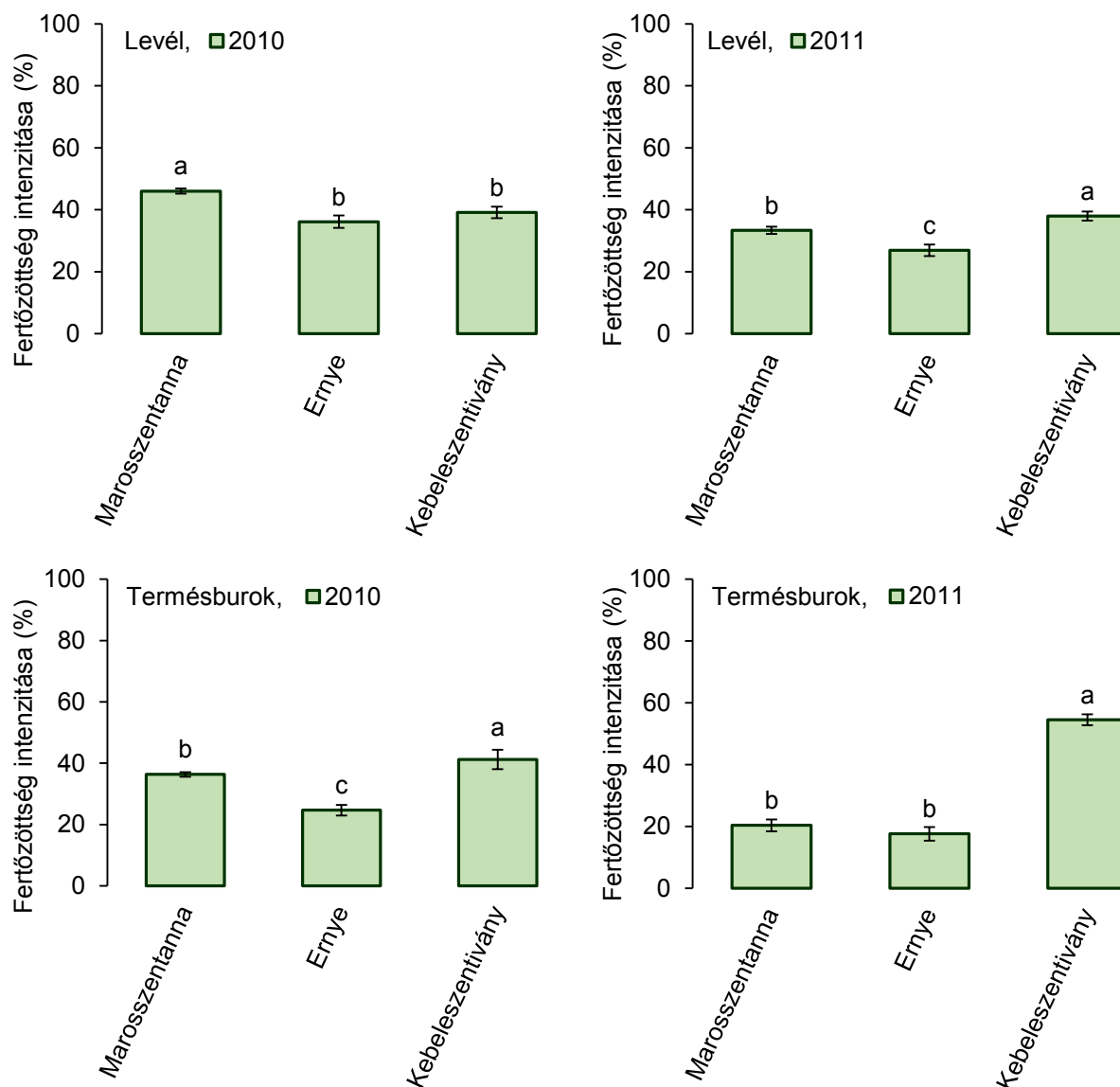
21. ábra. Felső-Háromszék diópopulációjának fertőzöttsége a termésburok és a lomb vizsgálata alapján (2009-2010); Az eltérő betűk a különböző települések közötti szignifikáns különbséget jelölik. Games-Howel teszt $p < 0,05$)

A termésburok átlagos adatai esetében Kézdialmás, Dálnok és Lemhény települések termőfáinál figyelhető meg szignifikánsan alacsony ($p \leq 0,05$) fertőzöttség. A két növényi szerv fertőzöttsége közötti különbség nem haladja meg az 1,34%-ot.

A két évjáratot összehasonlítva a levélfertőzöttség esetében legnagyobb különbséget a kézdizsentkereszt állomány adja. A 2009-es évjáratához képest a 2010-es fertőzöttség 120%-kal

nagyobb értéket mutat. Alacsony eltérés figyelhető meg Haraly, Kézdialmás és Torja állományai esetében. A termésburok megbetegedésénél jóval alacsonyabb különbség figyelhető meg, mint a levél esetében. A két évjárat között a legnagyobb különbséget (68,08%) Futásfalva termőfái adják. Alacsony mértékű különbséget négy település (Csomortán: 2,08%, Torja: 2,79%, Haraly: 4,58%, Kézdialbis: 5,82%) állománya esetében tapasztaltunk.

A marosmenti diópopulációban a termőfák xantomonasz okozta megbetegedési mértéke a 2010-es évjáratban a termőfák lombzatán volt a legkiterjedtebb, átlagosan 46,03%, hely szerint Marosszentannán (22. ábra).



22. ábra. Marosmenti diópopulációjának fertőzőtsége a termésburok és a lomb vizsgálata alapján (2010-2011; Az eltérő betűk a különböző települések közötti szignifikáns különbséget jelölik. Tukey's teszt $p < 0,05$)

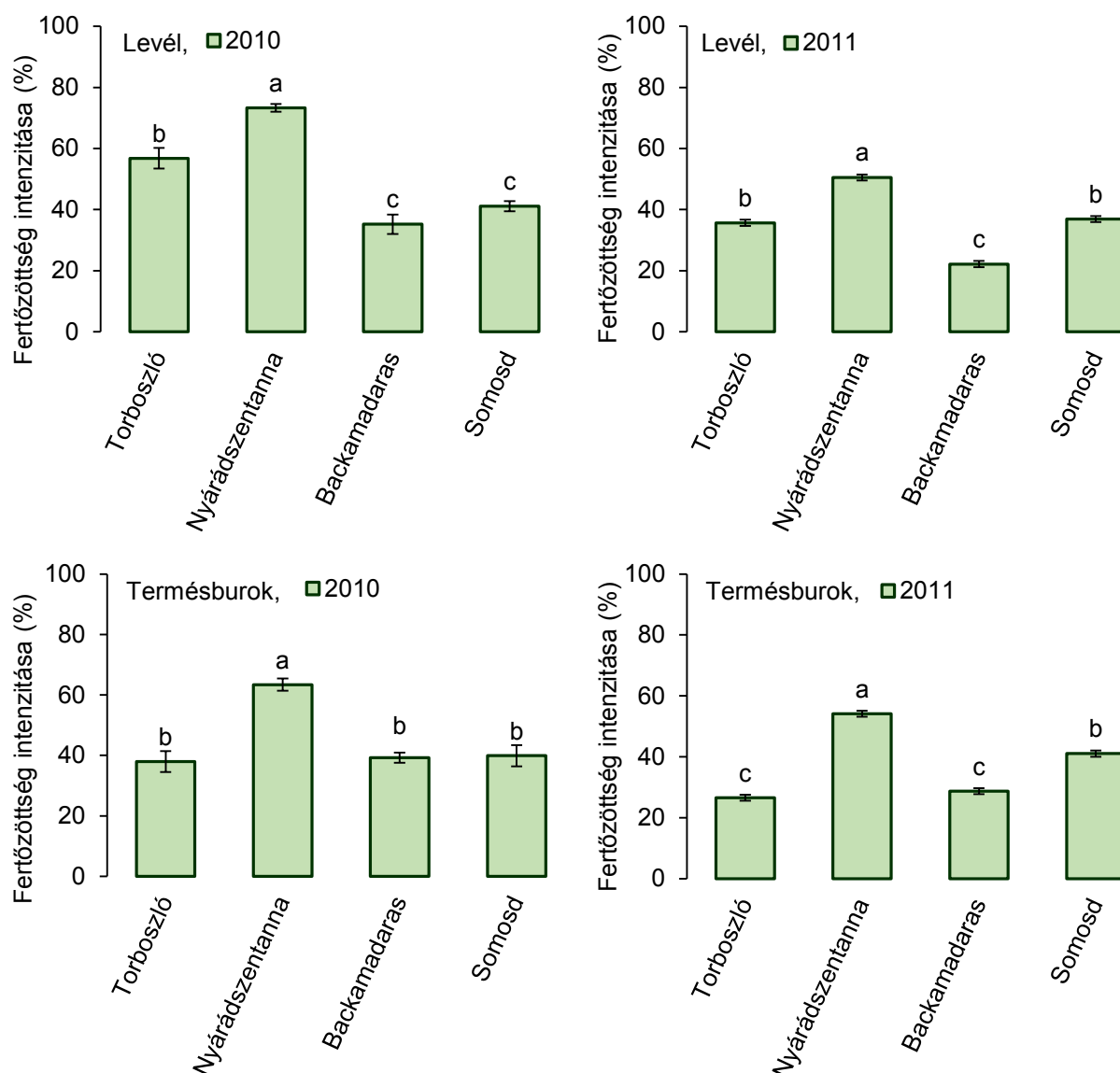
A különbség statisztikailag igazolt ($p < 0,05$) a Kebeleszentivány és Ernye kataszteri területén végzett felmérések átlagos fertőzöttségi értékeihez viszonyítva. A termésburok tekintetében szignifikánsan alacsony a fertőzöttség mértéke az ernyei termőfákon.

A lombozat és a termésburok fertőzöttségét összehasonlítva a marosszentannai ($t = 8,81$; $p < 0,001$) és az ernyei ($t = 4,42$; $p < 0,001$) állomány esetében szignifikáns a különbség. A Kebeleszentivány termőfái esetében nem találtunk szignifikáns eltérést a két növény szerv esetében ($t = -0,573$; $p = 0,569$).

A 2011-es évjárat vegetációs időszakának első harmadát csapadékhiány jellemezte. Májusban 27,3 mm-rel kevesebb csapadékot mértek a sokévi adatokhoz viszonyítva. Ezzel szemben június és július hónapok során 67 mm-rel, illetve 16,2 mm-rel többet észleltek a sokévi értékekhez képest. Ebben az évben a Marosszentannán és az Ernyében található termőfákon mind a levél ($t = -2,183$, $p = 0,031$; $t = -4,684$, $p < 0,001$), mind a termésburok ($t = -13,235$, $p < 0,001$; $t = -12,961$, $p < 0,001$) fertőzöttsége szignifikánsan alacsonyabb volt, mint Kebeleszentiványon. Ugyanakkor a termésburok fertőzöttsége nem haladta meg a 20%-ot. Összehasonlítva adott termőhelyen belül a két növényi szerv fertőzöttségét, mindhárom település szignifikáns különbséget mutat ($t_{\text{Marosszentanna}} = 5,906$, $p < 0,001$; $t_{\text{Ernye}} = 3,264$, $p = 0,002$; $t_{\text{Kebeleszentivány}} = -7,226$, $p < 0,001$) (21. ábra).

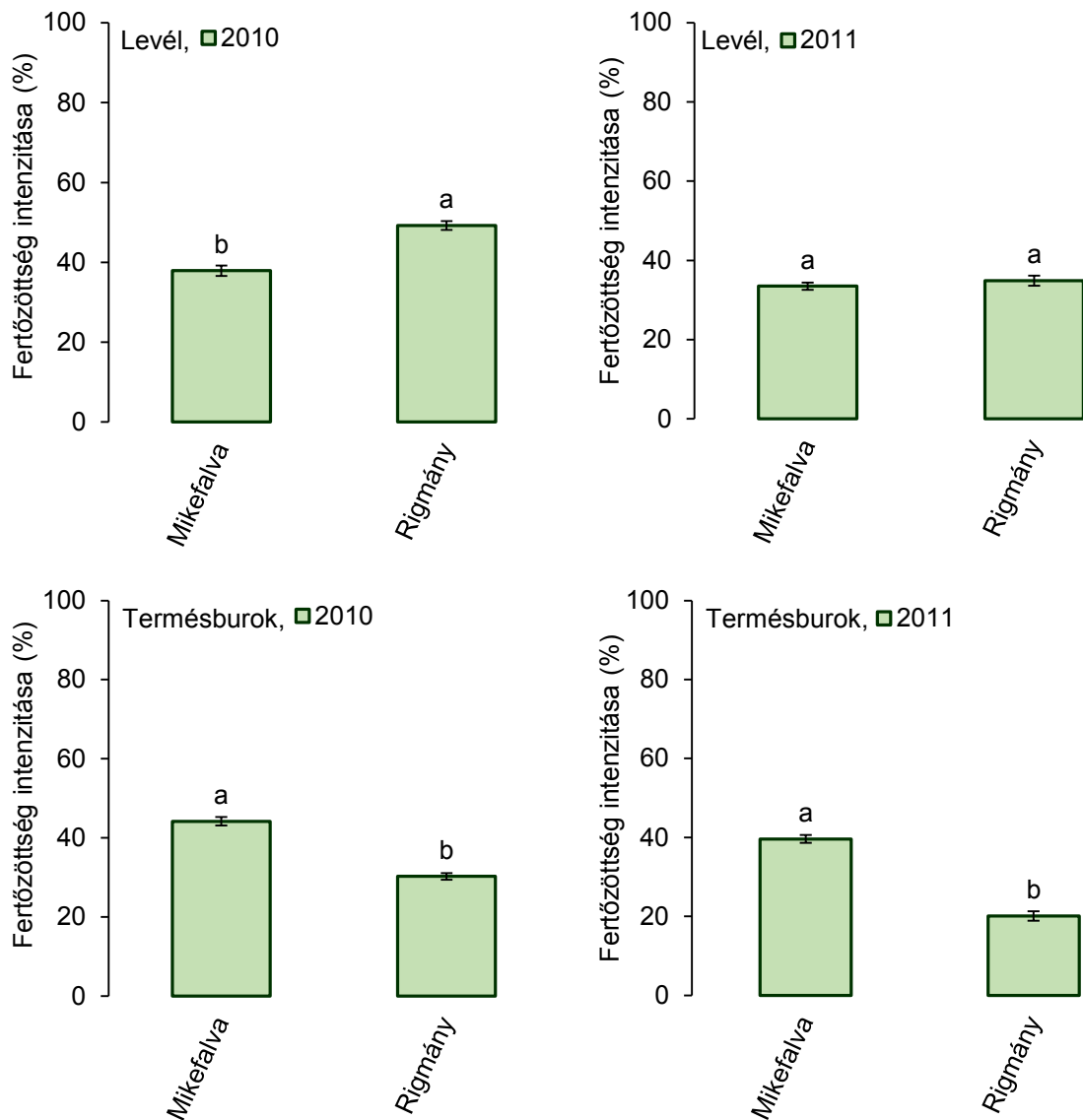
A nyárádmenti térségben, Nyárádszentanna vizsgálatba vont dióállományában a levélfertőzöttsége 2010-ben meghaladta a 70%-ot. Ehhez viszonyítva Backamadaras és Somosd termőhelyek populációjában 38,07%-kal, illetve 32,17%-kal szignifikánsan alacsonyabb betegségmértéket észleltünk ($t_{\text{Nyárádszentanna-Backamadaras}} = 13,092$, $p < 0,001$; $t_{\text{Nyárádszentanna-Somosd}} = 13,959$, $p < 0,001$) (23. ábra). A termésburok fertőzöttsége tekintetében hasonló tendencia figyelhető meg. Nyárádszentanna területén szignifikánsan magas fertőzöttség volt jellemző a többi termőhelyhez viszonyítva ($F = 26,658$, $p < 0,001$). A levél és termésburok fertőzöttsége közötti különbség tekintetében megállapítható, hogy a legkevésbé fertőzött két termőhelyen nincs szignifikáns különbség a két növényi szerv betegségmértékét illetően. Ezzel szemben Nyárádszentanna és Torboszló állományaiban a termőfák lombozatán szignifikánsan magasabb a xantomonasz okozta betegség mértéke, mint a termések zöldburkán ($t_{\text{Torboszló}} = 3,901$, $p < 0,001$; $t_{\text{Nyárádszentanna}} = 4,108$, $p < 0,001$).

2011-ben a levél fertőzöttsége 22,17% (Backamadaras) és 50,53% (Nyárádszentanna) átlagos értékek között változott.



23. ábra. Nyárádmunte diópopulációjának fertőzöttsége a terméshurok és a lomb vizsgálata alapján (2010-2011; Az eltérő betűk a különböző települések közötti szignifikáns különbséget jelölik. Tukey's teszt $p < 0,05$)

A 24. ábrán a Küküllőmentén található Mikefalva és Rigmány települések dióállományának xantomonasz fogékonysági eredménye látható. Legmagasabb fertőzöttséget (49,25%) 2010-ben Rigmány termőfáinak lombzatán állapítottunk meg. A különbség szignifikáns ($Z_{\text{Mikefalva-Rigmány}} = -5,875$; $p < 0,001$) a mikefalvi termőfákhoz viszonyítva, ahol a betegség mértéke 37,91%-os volt. A terméshurok károsodása a mikefalvi állományban magasabb (44,19%) volt, míg a rigmányi termőfák szignifikánsan ($Z_{\text{Mikefalva-Rigmány}} = -8,594$; $p < 0,001$) 14%-kal alacsonyabb fertőzöttséget mutattak.



24. ábra. Küküllőmente diópopulációjának fertőzöttsége a terméshurok és a lomb vizsgálata alapján (2010-2011). Az eltérő betűk a települések közötti szignifikáns különbséget jelölik.

Mann-Whitney teszt $p < 0,01$)

A két növényi szerv megbetegedését településenként összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy mindkét település termőfáin szignifikáns eltérés van a levél és a terméshurok fertőzöttsége között ($Z_{\text{Mikefalva(levél-terméshurok)}} = -3,381$, $p = 0,001$; $Z_{\text{Rigmány(levél-terméshurok)}} = -9,983$, $p < 0,001$).

A 2011-es vegetációs időszakban alacsonyabb volt a termőfák xantomonaszos megbetegedése. A két állomány lombzatának átlagos fertőzöttsége 33,50% (Mikefalva) és 34,85% (Rigmány) volt. A terméshurok xantomonaszos betegsége a rigmányi termőfákon nem haladta meg a 20%-ot. Ezzel szemben a mikefalvi adatok 20%-kal magasabb átlagos fertőzöttséget mutattak; a különbség szignifikáns ($Z_{\text{Mikefalva-Rigmány}} = -9,402$; $p < 0,001$).

Hasonlóan a 2010-es év adataihoz, 2011-ben is szignifikáns különbséget állapítottunk meg a levél és a termésburok megbetegedése között mindkét állományban ($Z_{\text{Mikefalva(levél-termésburok)}} = -4,298, p < 0,001$; $Z_{\text{Rigmány(levél-termésburok)}} = -7,119, p < 0,001$).

5.2. A BEGYŰJTÖTT IZOLÁTUMOK AZONOSÍTÁSA ÉS RÉZÉRZÉKENYSÉGE

Az Erdélyben és Magyarországon begyűjtött 61 *Xaj* törzs közül egyik sem bizonyult rezisztensnek. A keményítőt mindegyik törzs hidrolizálta. A részletes biokémiai értékelésekhez azt a két izolátumot választottuk ki, amelyek azonosan erős mértékű megbetegedést (virulenciát) mutattak, ezáltal szuszpenzió keverékben a mesterséges fertőzésekhez alkalmasnak bizonyultak. Az API 20 NE rendszer eredményei alapján a részletesen vizsgált NCPPB 411 (NZ) törzs, mint kontroll, valamint a Kárpát-medencében begyűjtött izolátumokból a mesterséges fertőzésekhez kiválasztott B.02490 (HU) és B.02489 (RO) *Xaj* törzsek azonos módon asszimilálták a szubsztrátokat. Különbséget csak a trinátrium-citrát esetében tapasztaltunk. A B.02490 (HU) törzs negatív reakciót adott, míg a NCPPB 411 (NZ) és a B.02489 (RO) törzs pozitívnak bizonyult (18. táblázat).

18. táblázat. Az API 20 NE kit 24 órás teszt eredményei a vizsgált *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* izolátumok esetében

Szénhidrát		Kontroll törzs	Izolátumok	
		NCPPB 411 (NZ)	B.02490 (HU)	B.02489 (RO)
kálium-nitrát	NO ₂	-		
	N ₂	-		
L-triptofán		-	-	-
D-glükóz		-	-	-
L-arginin		-	-	-
karbamid		-	-	-
eszkulin vas-citrát		+	+	+
zselatin		+	+	+
4-nitrofenil-βD-galaktopiranozid		+	+	+
D-glükóz		+	+	+
L-arabinóz		-	-	-
D-mannóz		+	+	+
D-mannitol		-	-	-
N-acetil-glükózamin		+	+	+
D-maltóz		+	+	+
kálium-glukonát		-	-	-
kaprinsav		-	-	-

Szénhidrát	Kontroll törzs	Izolátumok	
	NCPPB 411 (NZ)	B.02490 (HU)	B.02489 (RO)
adipinsav	-	-	-
almasav	+	+	+
trinátrium-citrát	+	-	+
fenil-ecetsav	-	-	-

Hevesi *et al.* (2004) *Erwinia amylovora* izolátumok esetében 49 féle szénhidrát hasznosítását határozták meg, és a szénhidrátbontás ideje szerint különítették el csoportokat. Ilyen csoportosítást alkalmaztunk jelen munkánkban is, s ugyancsak API 50 CH gyorsesztesztet (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) alkalmaztuk.

Eredményeink alapján mindhárom vizsgált *Xaj* törzs a 49 különböző szénhidrátból a 24-48 órás reakcióidő végére hármat (eszukulin vas-citrát, D-laktóz, keményítő) gyorsan és teljesen, míg négyet (D-Fukóz, L-Fukóz, D-Szacharóz, D-Laktóz) eltérően hasznosított (19. táblázat.). A 72-96 órás reakcióidő, valamint a 144 óra végére három (D-Glükóz, D-Melibióz, D-Lixóz), illetve két (amigdalín, D-Cellobióz) szénhidrátot hasznosítottak azonos mértékben. A B.02490 és a B.02489 törzs teljesen megegyező szénhidrátokat hasznosított azzal a különbséggel, hogy a B.02489 gyorsabban, míg a B.02490 lassabban hasznosította azokat. A kontrollként alkalmazott, Új-Zélandról származó törzs négy szénhidráttal (D-Szacharóz, D-Melezitóz, D-raffinóz, glikogén) kevesebbet hasznosított, mint a B.02490 (HU) és a B.02489 (RO) izolátum.

19. táblázat. A *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* izolátumok és a kontroll törzs szénhidrát hasznosításának eredményei az API 50 CH teszt alapján

Kontroll törzs		Izolátumok			
NCPPB 411 (NZ)		B.02490 (HU)		B.02489 (RO)	
Gyorsan és teljesen hasznosított szénhidrátok (24-48 h)					
Sor-szám	Szénhidrát	Sor-szám	Szénhidrát	Sor-szám	Szénhidrát
25	Eszkulin vas-citrát	25	Eszkulin vas-citrát	25	Eszkulin vas-citrát
29	D-Laktóz	29	D-Laktóz	29	D-Laktóz
36	Keményítő	36	Keményítő	31	D-Szacharóz
44	L-Fukóz			36	Keményítő
				43	D-Fukóz
				44	L-Fukóz

Kontroll törzs	Izolátumok	
NCPB 411 (NZ)	B.02490 (HU)	B.02489 (RO)

Lassan és teljesen hasznosított szénhidrátok (72-96 h)

Sor-szám	Szénhidrát	Sor-szám	Szénhidrát	Sor-szám	Szénhidrát
3	D-Arabinóz	11	D-Glükóz	3	D-Arabinóz
10	D-Galaktóz	30	D-Melibióz	10	D-Galaktóz
11	D-Glükóz	31	D-Szacharóz	11	D-Glükóz
12	D-Fruktóz	32	D-Trehalóz	12	D-Fruktóz
13	D-Mannóz	35	D-Raffinóz	13	D-Mannóz
28	D-Maltóz	41	D-Lixóz	28	D-Maltóz
30	D-Melibióz	43	D-Fukóz	30	D-Melibióz
41	D-Lixóz	44	L-Fukóz	32	D-Trehalóz
43	D-Fukóz			35	D-Raffinóz
				41	D-Lixóz

Lassan és gyengén hasznosított szénhidrátok (144 h)

Sor-szám	Szénhidrát	Sor-szám	Szénhidrát	Sor-szám	Szénhidrát
23	Amigdalín	3	D-Arabinóz	22	N-acetil-glükózamin
27	D-Cellobióz	10	D-Galaktóz	23	Amigdalín
32	D-Trehalóz	12	D-Fruktóz	27	D-Cellobióz
		13	D-Mannóz	34	D-Melezitóz
		22	N-acetil-glükózamin	37	Glikogén
		23	Amigdalín		
		27	D-Cellobióz		
		28	D-Maltóz		
		34	D-Melezitóz		
		37	Glikogén		

Nem hasznosított szénhidrátok

Sor-szám	Szénhidrát	Sor-szám	Szénhidrát	Sor-szám	Szénhidrát
1	Glicerín	1	Glicerín	1	Glicerín
2	Eritritol	2	Eritritol	2	Eritritol
4	L-arabinóz	4	L-arabinóz	4	L-arabinóz
5	D-Ribóz	5	D-Ribóz	5	D-Ribóz
6	D-xilóz	6	D-xilóz	6	D-xilóz
7	L-xilóz	7	L-xilóz	7	L-xilóz
8	D-adonit	8	D-adonit	8	D-adonit

Kontroll törzs		Izolátumok			
NCPB 411 (NZ)		B.02490 (HU)		B.02489 (RO)	
9	metil- β D-xilopiranozid	9	metil- β D-xilopiranozid	9	metil- β D-xilopiranozid
14	L-szorbóz	14	L-szorbóz	14	L-szorbóz
15	L-ramnóz	15	L-ramnóz	15	L-ramnóz
16	Galaktitol	16	Galaktitol	16	Galaktitol
17	Inozitol	17	Inozitol	17	Inozitol
18	D-mannitol	18	D-mannitol	18	D-mannitol
19	D-szorbitol	19	D-szorbitol	19	D-szorbitol
20	Metil- α D-mannopiranozidot	20	Metil- α D-mannopiranozidot	20	Metil- α D-mannopiranozidot
21	Metil- α D-glükopiranozid	21	Metil- α D-glükopiranozid	21	Metil- α D-glükopiranozid
22	N-acetil-glükózamin	24	Arbutin	24	Arbutin
24	Arbutin	26	Szalicin	26	Szalicin
26	Szalicin	33	Inulin	33	Inulin
31	D-Szacharóz	38	Xilitol	38	Xilitol
33	Inulin	39	Gentiobióz	39	Gentiobióz
34	D-Melezitóz	40	D-turanóz	40	D-turanóz
35	D-raffinóz	42	D-tagatóz	42	D-tagatóz
37	Glikogén	45	D-arabitol	45	D-arabitol
38	Xilitol	46	L-arabitol	46	L-arabitol
39	Gentiobióz	47	Kálium-glukonát	47	Kálium-glukonát
40	D-turanóz	48	Kálium 2-ketoglukonát	48	Kálium 2-ketoglukonát
42	D-tagatóz	49	Kálium 5-ketoglukonát	49	Kálium 5-ketoglukonát
45	D-arabitol				
46	L-arabitol				
47	Kálium-glukonát				
48	Kálium 2-ketoglukonát				
49	Kálium 5-ketoglukonát				

Az Új-Zélandból és a Kárpát-medencéből származó két törzs közötti eltérő szénhidrát hasznosításnak jelentősége lehet a rezisztencianemesítésben. E különbségből adódóan az adott termőhelyen jelenlevő rasszokkal szemben ellenálló fajtákat kell kiválasztani vagy a nemesítés során a helyi rasszokkal szemben jól viselkedő genotípusokat célszerű az adott populációból kiemelni, illetve a keresztezéses nemesítés esetén szülőpárként alkalmazni.

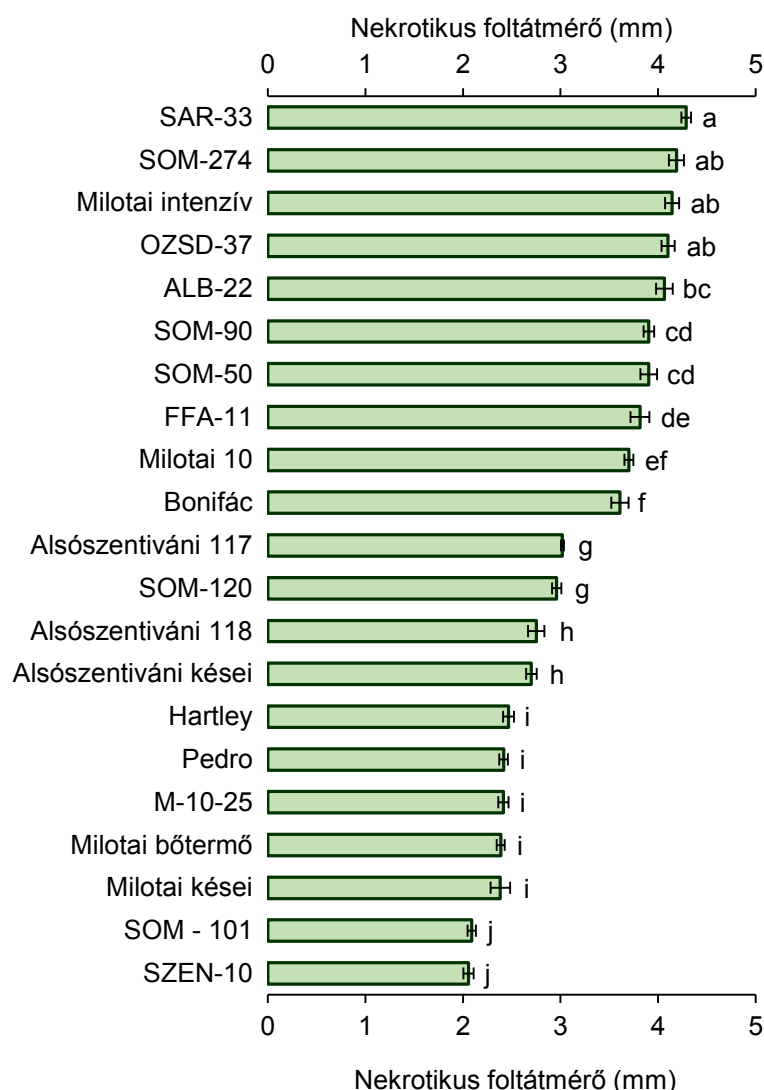
A Magyarországról és Erdélyből származó izolátumok azonos szénhidráthasznosítására való tekintettel megállapítható, hogy a fajták ellenállóságának/fogékonyságának tesztelése során elégséges lesz a fent megnevezett izolátumok keverékével végezni a fajtaértékelést. Ezáltal megalapozható egy máig megoldatlan nemesítési célkitűzés, egy olyan új fajtaszortiment előállítása, mely a dió xantomonaszos betegségével szemben megfelelő ellenállósággal rendelkezik.

5.3. MAGYAR DIÓFAJTÁK ÉS ERDÉLYI SZELEKCIÓK XANTOMONASZOS BETEGSÉGRE VALÓ FOGÉKONYSÁGA MESTERSÉGES INOKULÁCIÓ ALAPJÁN

In vitro kísérletben két saját izolálású (B.02490 (HU) és B.02489 (RO)), ellenőrzött virulenciájú izolátum keverékének szuszpenziójával, szűrással fertőztük 11 Magyarországon nemesített diófajta és 10 Erdélyben szelektált fenotípus 30-30 éretlen termését. Kontrollként a mérsékelt rezisztens (mR) ‘Pedro’ és a nagyon fogékony (hS) ‘Milotai intenzív’ fajtákat alkalmaztuk. A fogékonyság mértékének meghatározásához az összes inokulációs pont körül manifesztálódott és meg nem jelent tüneteket egyaránt figyelembe vettük. A nekrotikus foltátmérő adatait felhasználva Özaktan *et al.* (2008b) által kidolgozott s az anyag és módszer fejezetben bemutatott ötfokozatú skála (11. táblázat) felhasználásával végzett bonitálás alapján számoltuk ki a fertőzési indexet. A fertőzöttségi skála adatai alapján, Bertrand és Gottwald (1986) útmutatásai szerint meghatároztuk a fertőzöttség mértékét (*Fm*).

A nekrotikus foltátmérő adatait a 25. ábrán közöljük. A fogékony kontrollként kísérletbe vont ‘Milotai intenzív’ harmadik legfogékonyabbnak bizonyult a három vizsgálati év adatai alapján. Hozzá hasonló nagyon fogékonynak értékelhető szelekciók az ALB-22, az OZSD-37, a SOM-274, és a SAR-33. Mérsékelt fogékonyssággal rendelkező - kontroll fajtaként alkalmazott - ‘Pedro’ fajtához viszonyítva jelentős ellenállóságot állapítottunk meg a SZEN-10 és SOM-101 esetében (11. melléklet).

A fertőzöttség mértékét (*Fm*) tükröző adatok évenkénti átlagos értékeit a 20. táblázatban mutatjuk be. Néhány fajtánál a vizsgálati évek eredményei között nagy eltéréseket tapasztaltunk. Ennek alapján az ‘Alsószentiváni 118’ és a ‘Milotai kései’ fogékonyságának tisztázása érdekében további vizsgálatok szükségesek. 2010-ben végzett mesterséges fertőzések eredményei szerint a SZEN-10 átlagos *Fm* értéke szignifikánsan ($p < 0,05$) alacsonyabb mértékű a többi fajtához viszonyítva, mely alapján a mérsékelt fogékony kategóriába sorolható. Az OZSD-37, a SOM-90, az ALB-22 és a SOM-50 nagyon fogékonyak bizonyultak.



25. ábra. A mesterséges fertőzést követően kialakult nekrotikus foltátmérők a vizsgálatba vont diófajták és szelekciók éretlen termésein (2010-2013). Az oszlopokon található eltérő betűk a fajták közötti szignifikáns különbséget jelölik $p \leq 0,05$ valószínűségi szinten (Duncan teszt). Az oszlopok átlagértékeket ($n=360$) jelentenek. A hibasávok a standard hiba nagyságát mutatják.

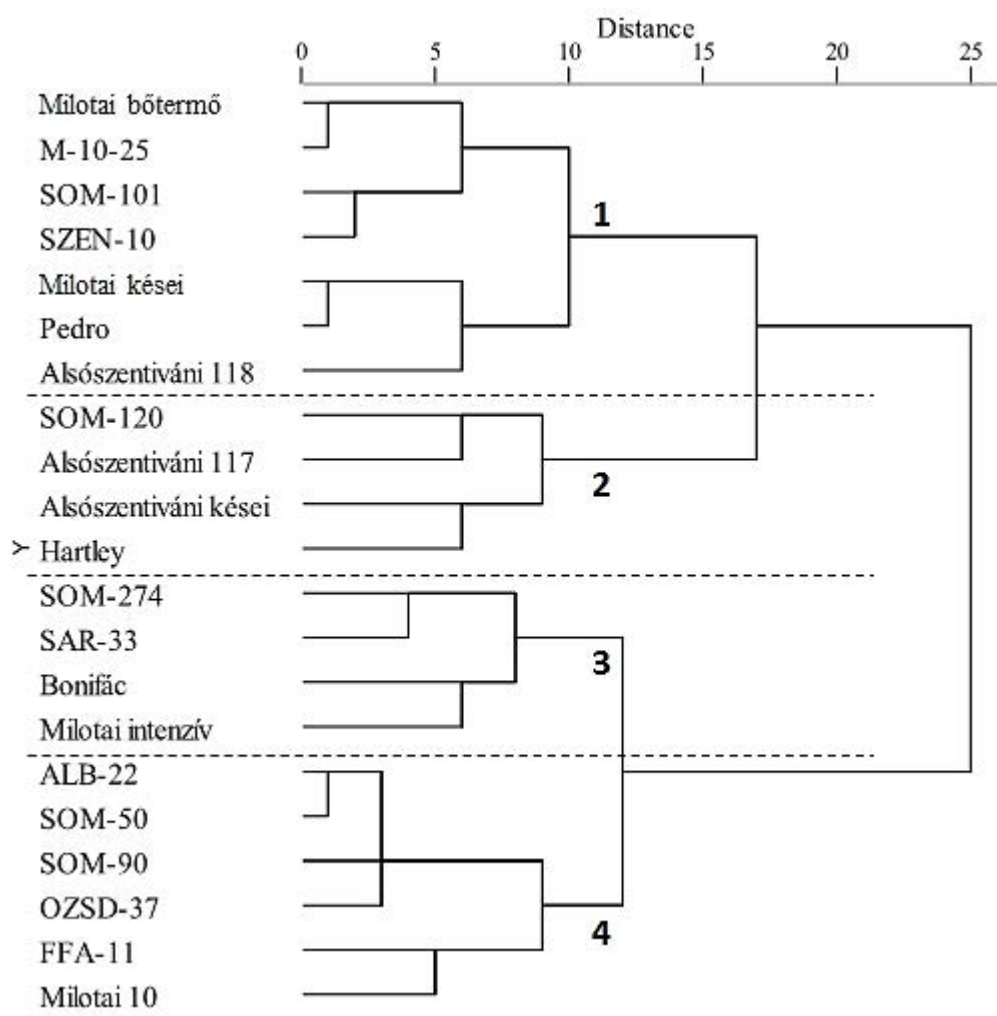
A 2011-es adatok esetében a Mann–Whitney teszt azon fajtákat, melyek átlagos *Fm* értéke kettő alatti, homogén csoportba (mérsékelt fogékony) sorolja, s a különbség szignifikáns ($p \leq 0.05$) a többi fajtaéhoz viszonyítva. A 2012-es eredmények alapján a fajták fogékonysága jobban elkülönült. Az adatok statisztikai értékelését követően a SOM-101 és a SZEN-10 mérsékelt rezisztensnek, a ‘Pedro’, a ‘Milotai kései’, a ‘Milotai bőtermő’, a ‘Hartley’, az M-10-25 és az ‘Alsószentiváni kései’ mérsékelt fogékonnak bizonyult. A 2013-ban kapott átlagos adatok szerint a SOM-101 és a SZEN-10 esetében, hasonlóan az előző évek eredményeihez, szignifikánsan kismértékű fogékonyság állapítható meg.

20. táblázat. A vizsgált diófajták és szelekciók fertőzöttségének mértéke mesterséges inokuláció alapján^x

Fajta/Szelekció	Fertőzöttség mértéke (<i>Fm</i> : 0-4)			
	2010 ^y	2011 ^z	2012 ^y	2013 ^z
Hartley		2,91±0,03 ^{a-c}	2,19±0,04 ^g	
Pedro		1,64±0,21 ^{gh}	2,10±0,03 ^{gh}	
Milotai 10		2,48±0,24 ^{de}	2,90±0,05 ^{a-d}	
Alsószentiváni 117		2,39±0,16 ^{d-f}	2,64±0,05 ^{de}	2,88±0,10 ^d
Alsószentiváni 118		1,52±0,38 ^{gh}	2,53±0,02 ^{ef}	
Milotai intenzív	2,55±0,20 ^{a-c}	2,57±0,24 ^{b-e}	2,80±0,08 ^{b-e}	
Milotai bőtermő		2,31±0,06 ^{ef}	2,18±0,08 ^g	
Milotai kései		1,29±0,29 ^h	2,16±0,01 ^g	
M-10-25		1,91±0,04 ^{gh}	2,21±0,01 ^{fg}	
Alsószentiváni kései		2,72±0,03 ^{a-e}	2,21±0,05 ^{fg}	
Bonifác	2,13±0,40 ^{bc}	2,50±0,08 ^{c-e}	2,95±0,01 ^{a-d}	
ALB-22	3,09±0,08 ^a	3,09±0,03 ^a	2,96±0,02 ^{a-d}	3,06±0,00 ^a
FFA-11	2,58±0,12 ^{a-c}	2,95±0,03 ^{a-c}	2,93±0,03 ^{a-d}	3,00±0,00 ^{bc}
OZSD-37	3,01±0,01 ^a	3,08±0,01 ^a	2,98±0,03 ^{a-c}	3,01±0,01 ^b
SAR-33	2,73±0,23 ^{ab}	2,73±0,23 ^{a-c}	3,06±0,07 ^{ab}	3,10±0,05 ^a
SZEN-10	1,85±0,10 ^c	2,24±0,09 ^{fg}	1,89±0,13 ^{gh}	2,48±0,21 ^e
SOM-50	3,15±0,06 ^a	2,91±0,08 ^{a-c}	3,10±0,06 ^{ab}	2,99±0,01 ^c
SOM-90	3,08±0,01 ^a	3,00±0,02 ^{ab}	3,20±0,06 ^a	3,00±0,00 ^{bc}
SOM-101	2,37±0,05 ^{a-c}	1,61±0,09 ^{gh}	1,81±0,09 ^h	2,30±0,03 ^f
SOM-120	2,41±0,12 ^{a-c}	2,79±0,06 ^{a-d}	2,69±0,06 ^{c-e}	2,88±0,03 ^d
SOM-274	2,36±0,09 ^{a-c}	3,00±0,12 ^{ab}	2,95±0,11 ^{a-d}	3,00±0,00 ^{bc}

^xAz adott vizsgálati év fajtankénti átlagértékei (n=90)± SE (standard hiba)^yAz oszloponkénti eltérő betűk az átlagértékek szignifikáns eltérését jelölik p≤0,05 valószínűségi szinten (Tukey teszt)^zAz eltérő betűk a fajták közötti szignifikáns különbséget jelölik p≤0,05 valószínűségi szinten (Mann-Whitney teszt)

Az évenkénti nekrotikus foltátmérő adatokból képezhető dendrogram (26. ábra) jól elkülönítette az egyes fogékonysági csoportokba tartozó fajtákat, s a fogékony csoportot a kevésbé fogékony csoportoktól. A fajták többségénél a különböző években kapott eredmények egymással egyezően igazolják a fajták fogékonyságának, illetve ellenállóságának mértékét. Azon fajták esetében, melyek évenkénti eredményei között jelentős eltérés tapasztalható, a dendrogram alapján történő kategóriába sorolódást tekintettük mérvadónak.



26. ábra. A diófajták és szelekciók baktériumos foltosság fogékonysága a nekrotikus foltátmérő és a fertőzöttség mértéke alapján (2010-2013). Az ábrán látható számok különböző fogékonysági osztályt jelölnek: 1: mérsékelten rezisztens (mR), 2: mérsékelten fogékony (mS), 3: fogékony (S), 4: nagyon fogékony (hS)

5.4. A FERTŐZÉS ÉLETTANI HÁTTÉRÉVEL KAPCSOLATOS EREDMÉNYEK

Vizsgálataink során 14 fenolvegyület szintézisének mennyiségi és minőségi változását értékeltük. A korábbi *in vitro* inokulációs eredményeink alapján a nagyon fogékony ALB-22 és a mérsékelten fogékony ‘Hartley’, valamint két mérsékelten rezisztens fajtát (‘Milotai kései’, ‘Pedro’) választottuk, melyek éretlen terméseit fertőztük, majd a fertőzés után 0, 24, 96, 216 óra elteltével mintát vettünk a fenolvegyületek baktériumsejtekre gyakorolt élettani háttérének feltárása céljából. A fertőzést követő azonnali mintavételi (0 órás) értékek mutatják a fajták azon fenolszintjét, amellyel természetes módon rendelkeznek (21. táblázat). Az időbeli változás követésével pedig arra kapunk választ, hogy a fertőzés hatására történik-e változás a fenolszintézisben, vagyis létrejön-e szöveti szintű védekezési mechanizmus.

Az éretlen termések zöldburka legmagasabb mennyiségben, a vizsgálatba vont 14 fenolvegyület közül a kvercetin és a juglont tartalmazta. A kvercetin 3-glükozid a vizsgálatba vont három fajta és szelekció átlagos értékei szerint 14,70%-ot tesz ki az értékelt fenolvegyületek összességéhez viszonyítva. A negyedik legmagasabb arányban (13,0 0%) a fahéjsav volt jelen. A (+)-katekin és a rutin 11,25%, illetve 8,12% arányban fordul elő. Alacsony szintű akkumulálódást mértünk a klorogénsav, kvercitrin és pirokatekin esetében. A galluszsav, (-)-epikatekin, sziringasav és vanillinsav természetes formában nagyon alacsony mértékben szintetizálódik. A protokatekin nyomokban fordul elő az éretlen diótermések zöldburkában.

A vizsgált három diófajta és szelekció szignifikáns különbséget mutatnak a juglon, galluszsav, sziringasav, kvercetin 3-glükozid, kvercitrin, (-)-epikatekin, fahéjsav és klorogénsav fenolvegyületek esetében.

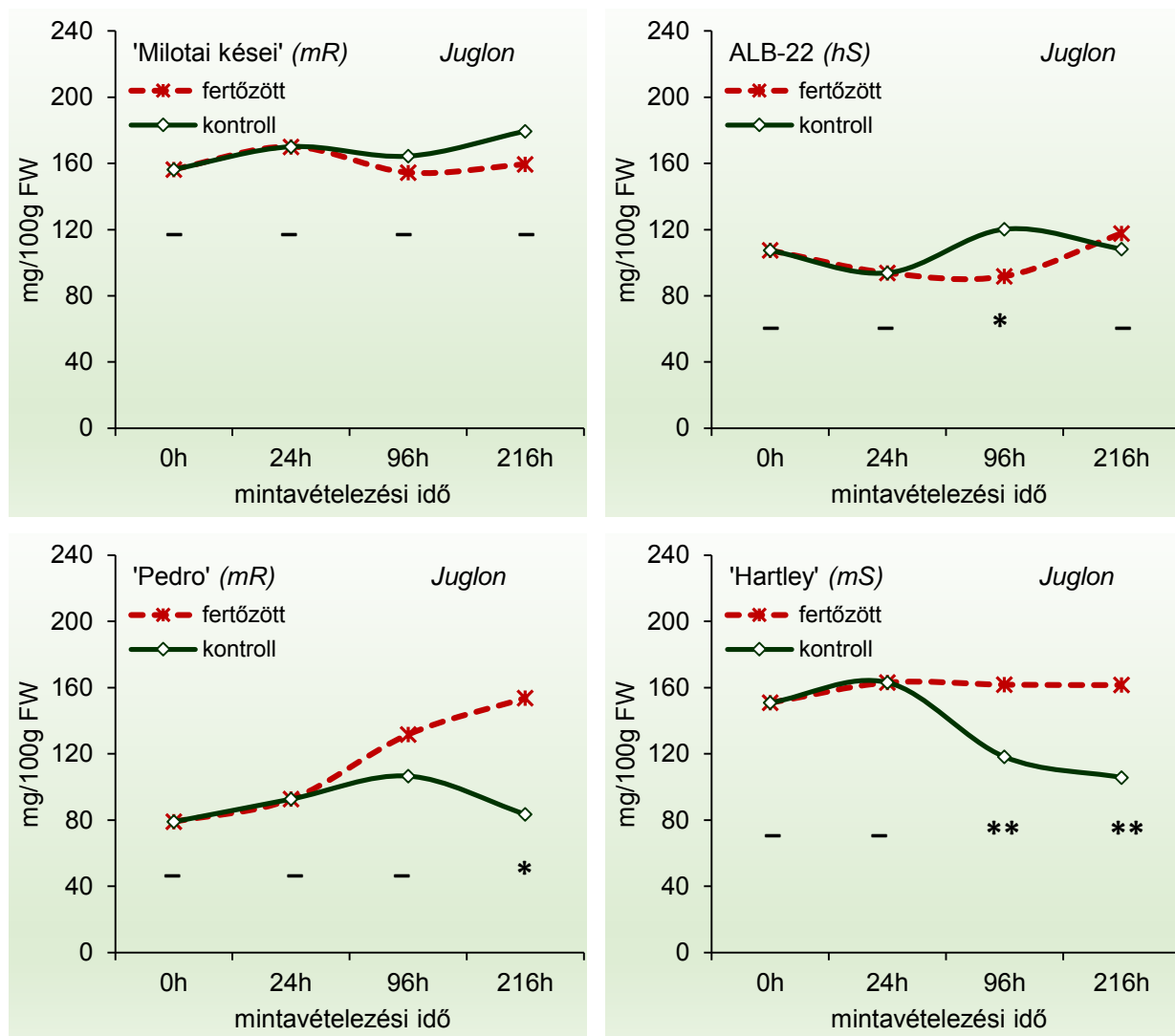
A 'Milotai kései' és a 'Hartley' zöldburka tartalmazta a legtöbb juglont. Mindkét fajtához viszonyítva az ALB-22 és a 'Pedro' esetében szignifikánsan alacsonyabb mennyiségben szintetizálódik. A benzoésav-eredetű fenol-karbonsavak (vanillinsav, galluszsav, sziringasav, protokatekin) fajtán belüli természetes aktivitásuk nem különbözik szignifikánsan, míg a fajtákat összehasonlítva a galluszsav és a sziringasav szignifikánsan ($F=34,37$; $p=0,000$) magasabb az ALB-22 szelekció esetében a három fajtához viszonyítva. A flavonolok csoportjába tartozó fenolvegyületek közül a kvercetin 3-glükozid és a kvercitrin mutat szignifikáns különbséget ($F=5,59$; $p=0,023$). A mérsékelt rezisztens 'Pedro' és a nagyon fogékony ALB-22 szelekció alacsony kvercetin 3-glükozid tartalma egymáshoz viszonyítva nem mutat szignifikáns eltérést. A 'Hartley', mely esetében a legmagasabb a fent megnevezett fenolvegyület természetes szintézise mind a 'Pedro', mind az ALB-22 szelekcióhoz viszonyítva szignifikáns különbséget mutat ($p=0,026$; $p=0,048$). A flavanol származékok közül csak az (-)-epikatekin ad szignifikáns különbséget; a három fajta és szelekciót két szignifikánsan elkülönülő homogén csoportra osztva. A hidroxifahéjsav-származékok közül a fahéjsav kiemelkedően magas a nagyon fogékony ALB-22 szelekció zöldburkában (163,13 mg/100 g FW). A mérsékelt rezisztens 'Pedro' 49,30%-kal alacsonyabb mennyiségben tartalmazta. A 'Milotai kései' és a 'Hartley' közel azonos mértékben szintetizálta a fahéjsavat. Az adatok statisztikai elemzése alapján szignifikáns különbség állapítható meg az ALB-22, 'Pedro' és 'Hartley' között. A klorogénsav 30 mg/100 g FW meghaladó koncentrációban volt mérhető a 'Milotai kései', az ALB-22 és a 'Hartley' esetében. A 'Pedro' éretlen terméseinek zöldburka 17 mg/100 g FW mennyiségben tartalmazta a klorogénsavat.

21. táblázat. A vizsgálatba vont diófajták és szelekció természetes fenolvegyület szintézise az éretlen diótermések zöldburkában

Sor-szám	Fenolvegyület	‘Milotai kései’	ALB-22	‘Hartley’	‘Pedro’	Átlag	Szignifikancia
<i>Naftokinon-származék</i>							
1.	Juglon	156,40 a	107,44 bc	150,85 a	79,00 abc	123,42	**
<i>Benzoészav-eredetű fenol-karbonsavak</i>							
2.	Vanillinsav	2,74 e	4,51 d	4,19 c	1,79 e	3,31	—
3.	Galluszsav	5,89 e	11,39 d	6,39 c	4,70 e	7,09	***
4.	Sziringasav	1,66 e	8,61 d	2,00 c	2,52 e	3,70	**
5.	Protokatekin	0,93 e	0,97 d	2,20 c	0,73 e	1,21	—
<i>Flavonolok</i>							
6.	Kvercetin	122,65 ab	142,20 ab	147,28 a	133,01 a	136,29	—
7.	Kvercetin 3-glükózid	106,73 abc	76,56 c	137,55 ab	68,30 bcd	97,29	*
8.	Kvercitrin	29,68 de	12,30 d	41,51 c	21,73 cde	26,31	*
9.	Rutin	83,97 bcd	20,96 d	68,27 bc	41,73 bcde	53,73	—
<i>Flavanolok</i>							
10.	Pirokatekin	6,13 e	8,05 d	13,61 c	13,84 de	10,41	—
11.	(+)-Katekin	57,53 bcde	78,37 c	72,88 bc	89,03 ab	74,45	—
12.	(-)-Epikatekin	6,68 e	6,58 d	2,88 c	2,88 e	4,76	**
<i>Hidroxi-fahéjsav-származékok</i>							
13.	Fahéjsav	51,66 cde	163,13 a	46,68 c	82,70 ab	86,04	***
14.	Klorogénsav	32,70 de	33,97 d	35,90 c	17,27 de	29,96	*
Összes fenoltartalom		665,34	675,03	747,80	559,22		

Megjegyzés: Az oszloponkénti eltérő betűjelzések a vizsgált fenolvegyületek fajtán belüli szignifikáns különbségeket jelölik $p \leq 0,05$ valószínűségi szinten. A fajták közötti szignifikancia vizsgálat eredményét a következő jelzések mutatják: ***: $p \leq 0,001$; **: $p \leq 0,01$; *: $p \leq 0,05$; —: nem szignifikáns

A naftokinon-származékok közül a juglon (5-hidroxi-1,4-naftokinon) mennyiségét és a fertőzés hatására kibontakozó aktivitását mértük. Megállapítható, hogy természetes aktivitása a négy fajta közül a 'Milotai kései' esetében volt a legmagasabb (156,40 mg/100 g FW) (27. ábra).



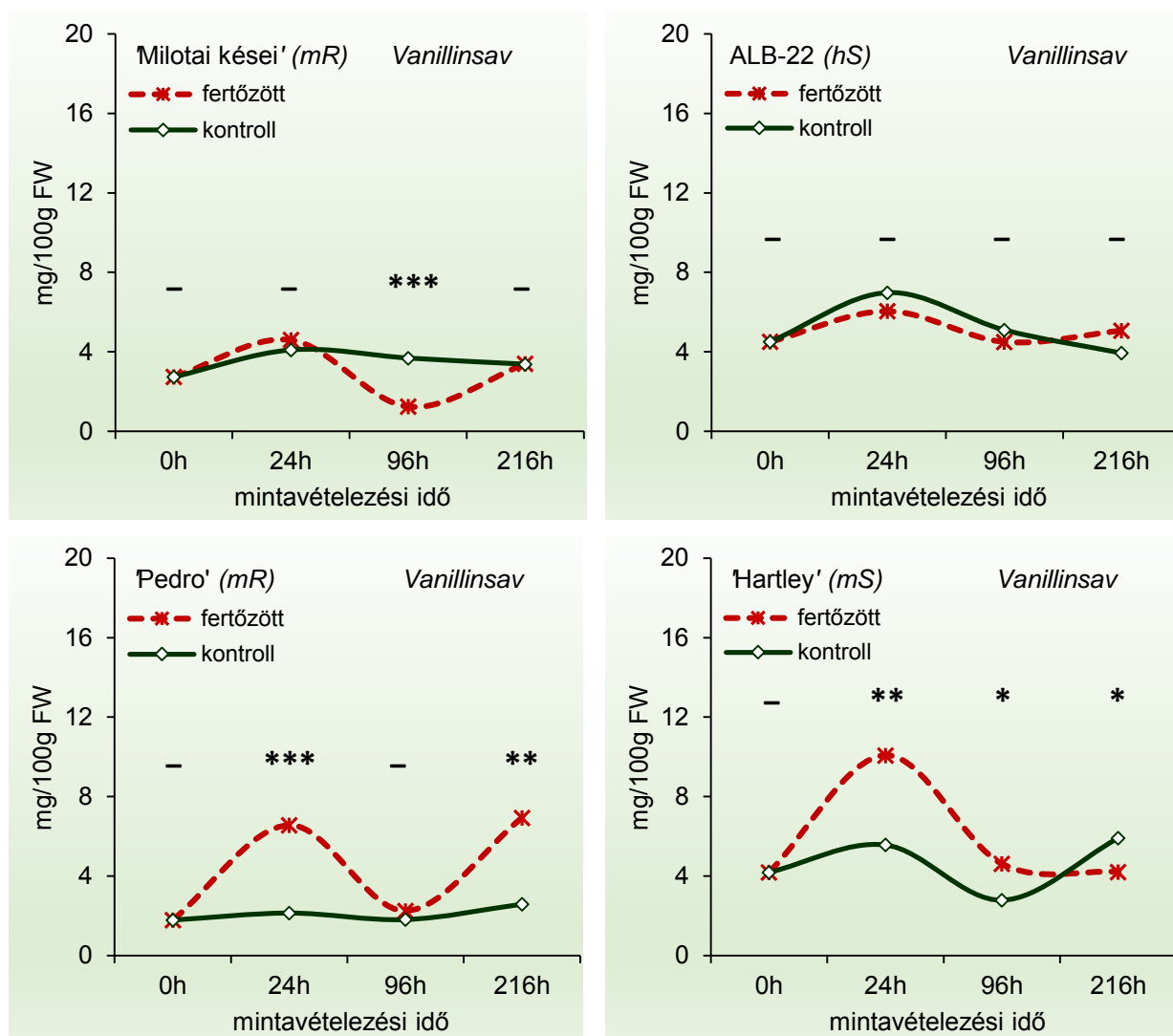
27. ábra. A juglon mérhető mennyiségének változása a különböző fajták esetében a mesterséges fertőzés hatására. A különböző mintavételezési időpontokban a fenoltartalom átlagos értékei vannak feltüntetve. Az ábrákon a különböző mintavételezési időpontokban a fertőzött- és a kontroll átlagértékei közötti szignifikancia vizsgálat eredménye látható az alábbi módon: **: $p \leq 0,01$; *: $p \leq 0,05$; —: nem szignifikáns

A 'Hartley' az előző fajtaéhoz viszonyítva közel hasonló mennyiséggel (150,85 mg/100 g FW) rendelkezett. Legalacsonyabb átlagos aktivitást (78,99 mg/100 g FW) a 'Pedro' esetében mértünk. A fertőzés hatására az első 24 órában a mérsékelt rezisztens 'Milotai kései' és 'Pedro', valamint a mérsékelt fogékony 'Hartley' esetében kisebb növekedést tapasztaltunk. Ezzel ellentétben a nagyon fogékony ALB-22 szelekció zöldbурkaiban csökkent a juglon koncentrációja. A fertőzés

után 24 órával mind a fertőzött (*Xaj* törzskeverékkel fertőzve), mind a kontroll (steril desztillált vizet juttatva be a szűrés helyekre) termésekben hasonló mértékű a változás. Összehasonlítva a fertőzés után közvetlen vett minták adatait a 24 órával későbbi mintavételezés adataival, a fent megnevezett fajták esetében a különbség nem szignifikáns. A fertőzés után 96 órával a juglon mennyisége jelentős mértékben tovább emelkedik a 'Pedro' termések zöldburkaiban. A különbség 30%-kal magasabb aktivitást jelent a 24 órás és 40%-kal többet a 0 órás minták átlagos értékeihez viszonyítva. Ezzel szemben a kontroll mintákban a juglon növekedése 13%-os a 24 órás és 25%-os a 0 órás minták átlagához képest. A juglon aktivitása a kilencedik napon volt a legmagasabb (153,69 mg/100 g FW). A kontrollhoz képest szignifikánsan ($Z_{216h \text{ kontroll} - 216h \text{ fertőzött}} = -1,964$; $p=0,050$) közel kétszeresére emelkedett. A mérsékelt fogékony 'Hartley' esetében a 24 órás enyhe növekedést követően 96 és 216 órával a fertőzést követően a juglon tartalom kissé csökken. A nem fertőzött termésekben a juglon tartalom csökkenése jelentős, viszont szignifikáns különbség csak a 0 órás és a 216 órás minták esetében állapítható meg ($t_{0h - 216h \text{ kontroll}} = 3,511$; $p=0,025$). Összehasonlítva a fertőzött és kontroll termések juglon szintézis értékeit a negyedik és a kilencedik napon vett minták juglontartalma között szignifikáns ($t_{96h \text{ kontroll} - 96h \text{ fertőzött}} = 3,515$; $p=0,025$), illetve igen nagy szignifikáns ($t_{216h \text{ kontroll} - 216h \text{ fertőzött}} = 71,688$; $p=0,000$) különbséget állapítottunk meg. Ugyanakkor a kontroll minták emelkedett mennyiségéhez viszonyítva szignifikáns különbség mutatható ki. 216 órával a fertőzést követően a juglontartalom visszaáll, vagy kissé meghaladja a természetes aktivitás szintjét. A 'Milotai kései' terméseiben mért természetes aktivitást alacsonyabb mértékű változások jellemzik. Mind a kezelések között, mind pedig a kezelések és a természetes módon jelen levő juglonszint között nem állapítható meg szignifikáns elmozdulás.

A vizsgálatba vont *benzoészav-eredetű fenol-karbonsavak* közül a *vanillinsav*, *galluszsav*, *szíringaszav*, *protokatekin* vegyületek alakulását mértük. A 28. ábrán a vanillinsav aktivitásának átlagos értékeit szemléltetjük. A természetes módon jelen lévő két legmagasabb mennyiséget a nagyon fogékony ALB-22 és a mérsékelt fogékony 'Hartley' éretlen terméseinek zöldburkában mértük. A mérsékelt rezisztens 'Milotai kései' és 'Pedro' átlagos vanillinsav tartalma 2,74 mg/100 g FW, illetve 1,79 mg/100 g FW.

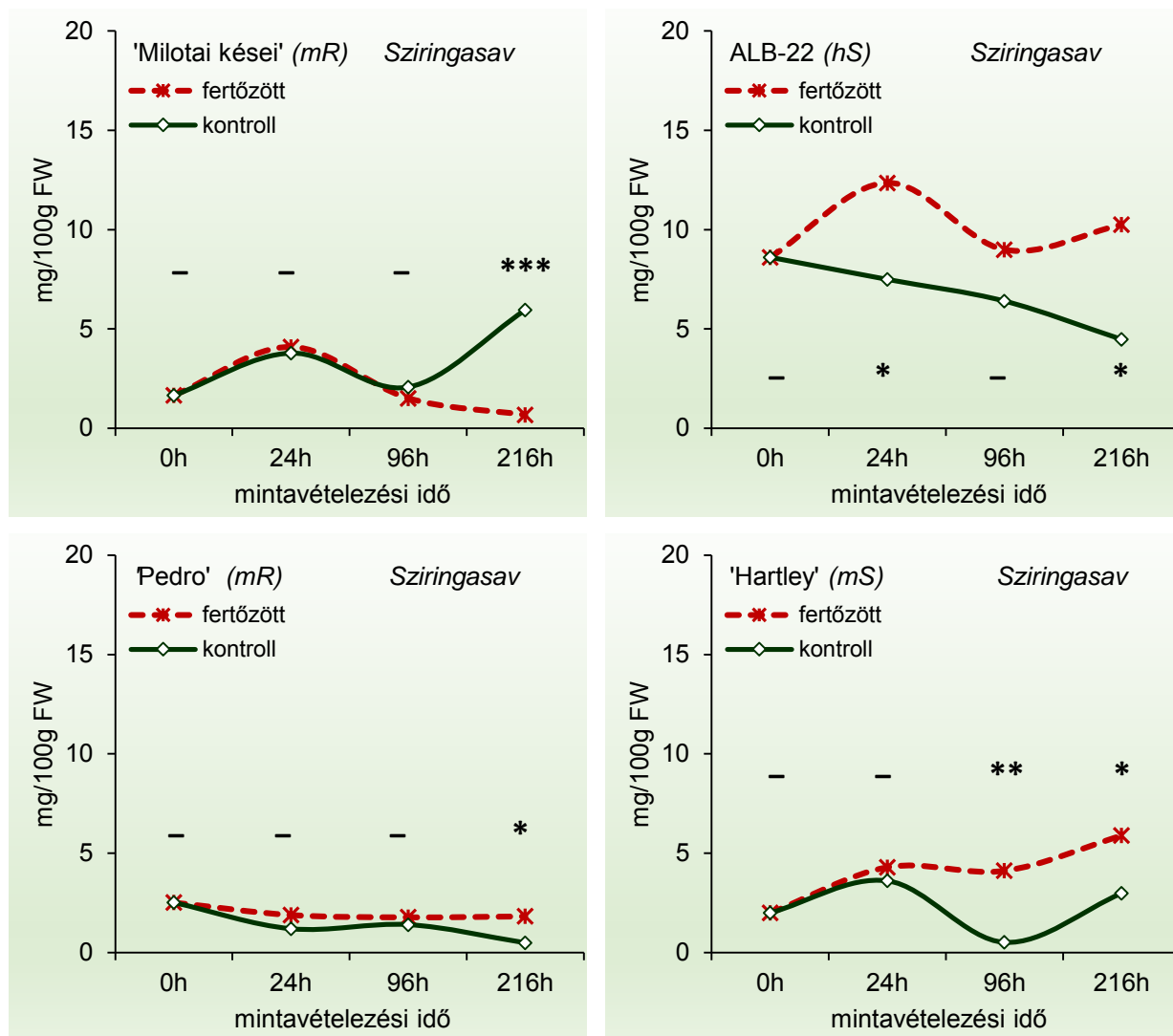
A fertőzés hatására a 24 órás mintákban a kevésbé fogékony 'Pedro' esetében igen nagy szignifikáns eltéréssel ($t_{24h \text{ kontroll} - 24h \text{ fertőzött}} = 9,507$; $p=0,001$) magasabb a kimutatható vanillinsav a kontrollhoz viszonyítva. Ugyanakkor a fertőzés lefolyása alatt a negyedik napon jelentős csökkenést mutat, majd a kilencedik napon éri el a legmagasabb értéket (6,93 mg/100 g FW).



28. ábra. A vanillinsav mérhető mennyiségének változása a különböző fajták esetében a mesterséges fertőzés hatására. A különböző időpontokban a fenoltartalom átlagos értékei vannak feltüntetve. Az ábrákon a különböző mintavételezési időpontokban a fertőzött- és a kontroll átlagértékei közötti szignifikancia vizsgálat eredménye látható az alábbi módon: ***: $p \leq 0,001$; **: $p \leq 0,01$; *: $p \leq 0,05$; -: nem szignifikáns

A 'Hartley' zöldburok mintáiban a fertőzést követően 24 órával ugyancsak tapasztalható egy magasabb vanillinsav szint a kontrollhoz képest, amely nagy szignifikáns eltérést ad ($t_{24h \text{ kontroll} - 24h \text{ fertőzött}} = 4,910$; $p = 0,008$). A fertőzést követően 96 és 216 órával a koncentráció vissza csökken a természetes aktivitás szintjére. A nagyon fogékony ALB-22 esetében 24 órával az inkubációs idő megkezdése után mind a kontroll, mind a fertőzött termésekben egyaránt tapasztalható egy alacsonyabb szintű aktivitás emelkedés. Azonban az inkubációs időtartam teljes hossza alatt a kontroll és a fertőzött termések vanillinsav aktivitása között nem állapítható meg szignifikáns eltérés.

A *sziringasav* természetes aktivitása a 0 órás minták mérési eredményei alapján az ALB-22 kivételével mindhárom fajtánál alacsony határérték között változott ('Milotai kései': 1,66 – 'Pedro': 2,52 mg/100 g) (29. ábra).



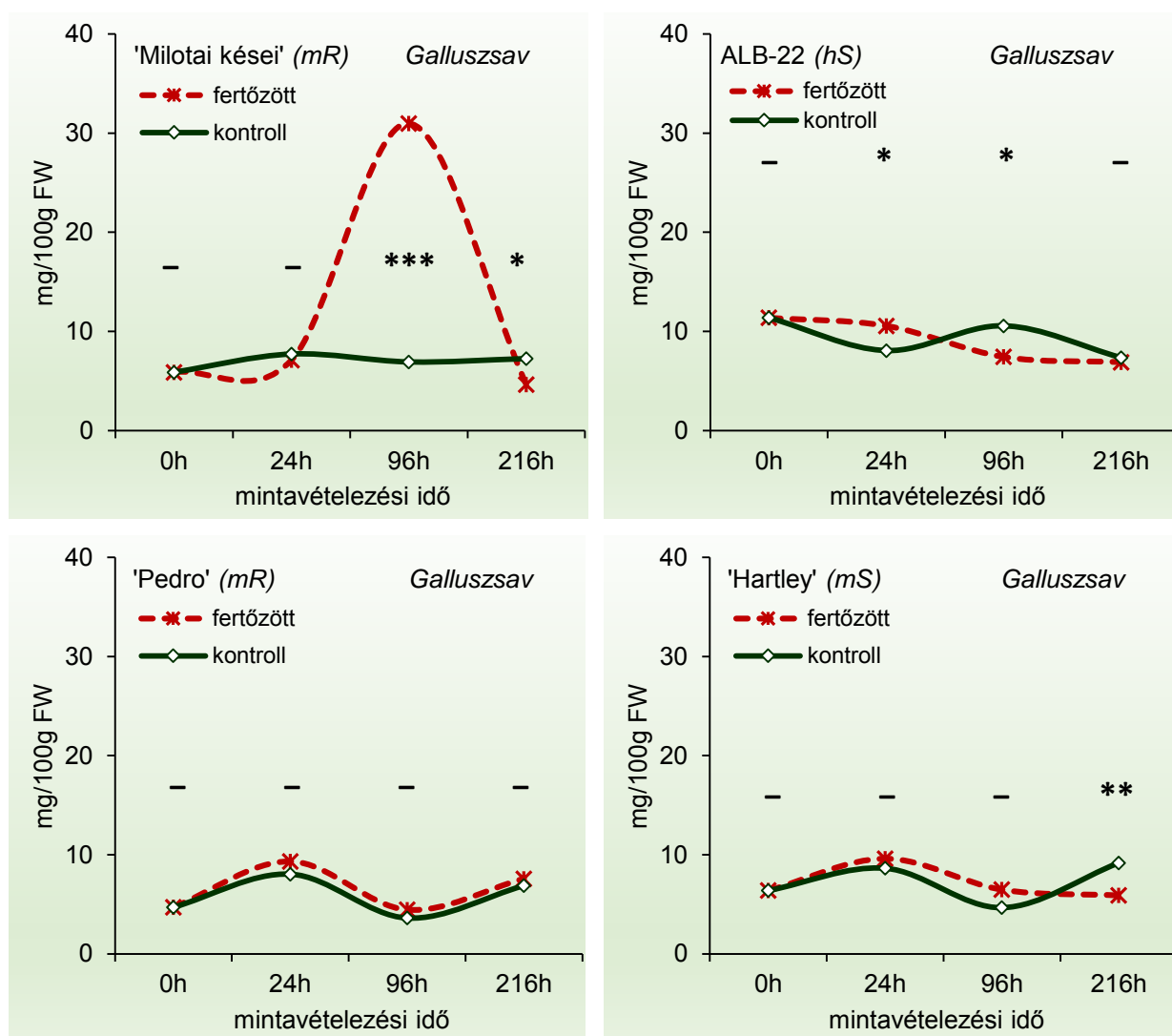
29. ábra. A sziringasav mennyiségének mérhető mennyiségének változása a különböző fajták esetében a mesterséges fertőzés hatására. A különböző időpontokban a fenoltartalom átlagos értékei vannak feltüntetve. Az ábrákon a különböző mintavételezési időpontokban a fertőzött- és a kontroll átlagértékei közötti szignifikancia vizsgálat eredménye látható az alábbi módon:

***: $p \leq 0,001$; **: $p \leq 0,01$; *: $p \leq 0,05$; -: nem szignifikáns

A fertőzést követő inkubációs időszak alatt a mérsékelt rezisztens fajták ('Milotai kései', 'Pedro') terméseiben csökkenő tendenciát mutat a sziringasav szintézise. Ezzel ellentétben a nagyon fogékony ALB-22 szelekció és a mérsékelt fogékony 'Hartley' fertőzött terméseiben emelkedett a mérhető sziringasav aktivitás. Az ALB-22 zöldburok mintáiban 24 órával a fertőzést követően 30,36%-kal magasabb a fenolvegyület mennyisége a természetes szinthez viszonyítva.

A két kezelés között szignifikáns különbséget állapítottunk meg ($t_{24h\text{ kontroll} - 24h\text{ fertőzött}}=3,341$; $p=0,029$). Míg a fertőzés hatására a természetes aktivitáshoz viszonyítva viszonylag emelkedik a sziringasav mennyiség, addig a kontroll termésekben negatív irányú lineáris csökkenést mutat az inkubációs időszak folyamán. A 'Hartley' esetében a fertőzött termésekben az inkubációs időszak során alacsony mértékű ingadozás mellett ugyancsak emelkedő aktivitást mértünk.

A *galluszsav* a 'Milotai kései', 'Pedro' és a 'Hartley' 0 órás mintái esetében 4,70 és 6,38 mg/100 g FW koncentráció között változott. Az ALB-22 szelekció esetében ehhez képest jóval magasabb mennyiséget (11,39 mg/100 g FW) mértünk (30. ábra).



30. ábra. A galluszsav mérhető mennyiségének változása a különböző fajták esetében a mesterséges fertőzés hatására. A különböző időpontokban a fenoltartalom átlagos értékei vannak feltüntetve. Az ábrákon a különböző mintavételezési időpontokban a fertőzött- és a kontroll átlagértékei közötti szignifikancia vizsgálat eredménye látható az alábbi módon:

***: $p \leq 0,001$; **: $p \leq 0,01$; *: $p \leq 0,05$; -: nem szignifikáns

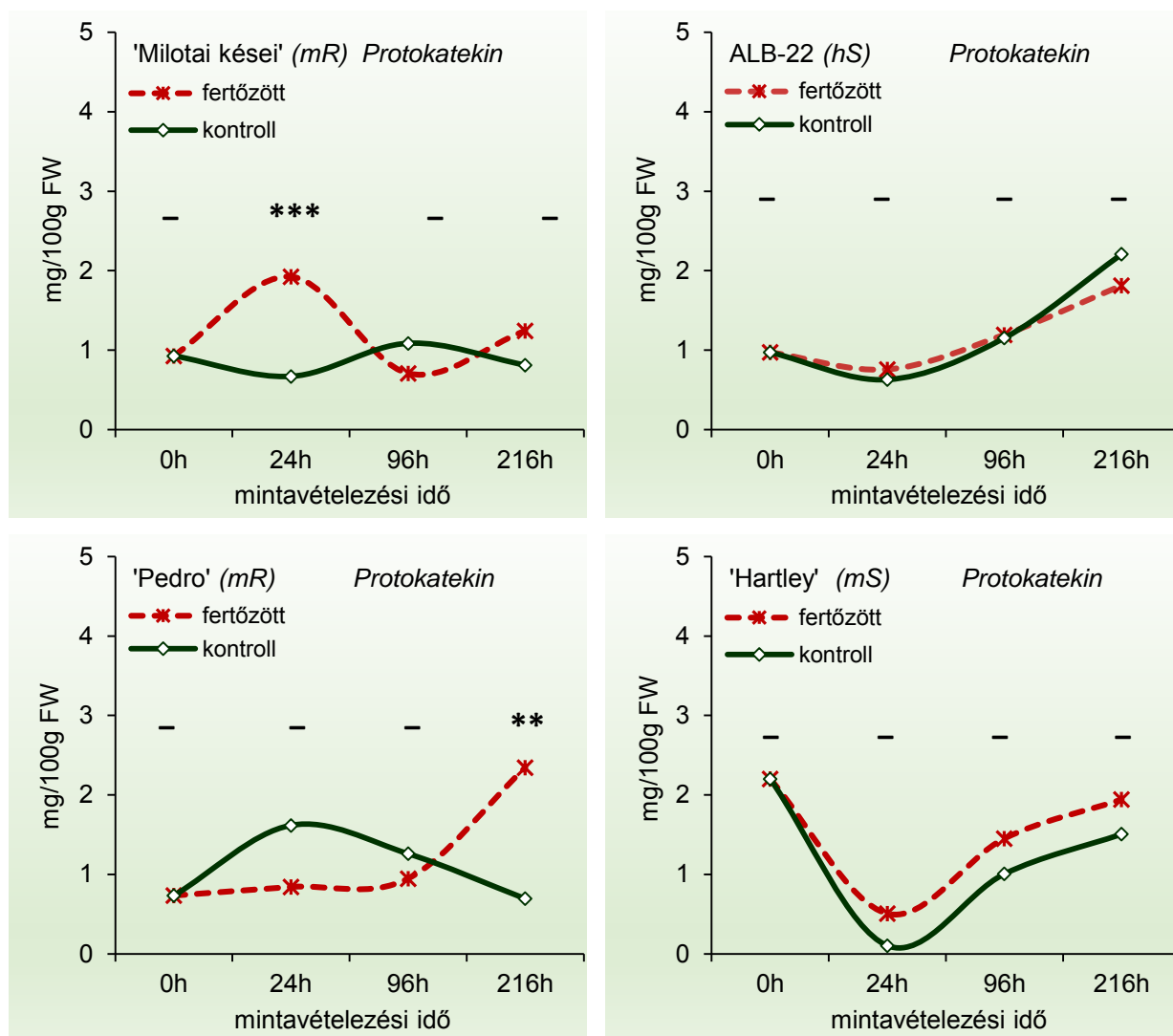
A fertőzést követő inkubációs időszak folyamán csak a 'Milotai kései' esetében mértünk kiemelkedően magas galluszsav szintézist, amely a 96 órás minták esetében nyilvánult meg. Ezen aktivitás a természetes szinthez viszonyítva 81,99%-kal magasabbnak bizonyult. Ugyanakkor összehasonlítva a kontroll termésekben mérhető koncentrációval, igen nagy szignifikáns különbséget állapíthatunk meg ($t_{96h \text{ kontroll} - 96h \text{ fertőzött}}=10,199$; $p=0,001$). A 'Pedro' esetében 24 órával a fertőzést követően enyhe növekedés tapasztalható a 0. órás mintákhoz viszonyítva. Azonban közel hasonló az aktivitás emelkedése a kontroll termésekben, ami a vizsgálati időszak folyamán végig megmarad.

A nagyon fogékony ALB-22 szelekció galluszsav aktivitása csökkenő tendenciát mutat a fertőzést követő inkubációs időszak teljes időszaka alatt. A mérsékelt fogékony 'Hartley' esetében a fertőzött és a kontroll minták hasonló aktivitást mutatnak. Kivételt képez a 216 órás kontroll mintáknál tapasztalt szignifikáns ($t_{216h \text{ kontroll} - 216h \text{ fertőzött}}=-5,449$; $p=0,006$) emelkedés.

A *protokatekin* természetes aktivitása a 'Milotai kései' és az ALB-22 esetében közel 1,00 mg/100 g koncentrációt mértünk. A legalacsonyabb mennyiséget (0,73 mg/100 g FW) a 'Pedro' terméseinek zöldburkában mértük, míg a 'Hartley' esetében volt legmagasabb a koncentráció (2,20 mg/100 g FW) (31. ábra).

A fertőzést követően eltérő módon változott a *protokatekin* aktivitás. A 'Milotai kései' éretlen fertőzött terméseiben a 24 órás mintavételezésekből származó adatok alapján jelentős szintézis emelkedés figyelhető meg mind a természetes aktivitáshoz viszonyítva, mind a kontroll termésekben mérhető *protokatekin* szintézissel összehasonlítva. Azonban a 96. órában mért mintákban jelentősen lecsökken, majd 216 órával a fertőzést követően újra emelkedni kezd. A különbség igen nagy mértékben ($t_{24h \text{ kontroll} - 24h \text{ fertőzött}}=11,150$; $p=0,000$) szignifikáns a 24 órás mintavételezési időpontban mért fertőzött és kontroll termések átlagos *protokatekin* tartalma között. Amennyiben összehasonlítjuk a 0 órás tulajdonképpeni természetes aktivitást a fertőzött termések 24 órás mintavételezési értékeivel 51,56%-kal magasabb szintézis különbséget kapunk. Ugyanakkor a statisztikai elemzés alapján a két átlagos érték nagy szignifikáns különbséget mutat ($t_{0h - 24h \text{ fertőzött}}=-5,393$; $p=0,006$). Az ALB-22 fertőzött terméseiben az inkubációs időszak folyamán az első 24 órában kissé csökken a mennyiség, majd a későbbi mintavételezési pontokban folyamatos növekedés tapasztalható. Azonban a kontrollhoz képest nem találtunk szignifikáns eltérést. A 'Pedro' esetében 24 és 96 órával a fertőzést követően nem történt jelentős szintézis emelkedés. Ezzel szemben a kontroll minták esetében ugyanakkor 48,15%-kal (24h), illetve 24,60%-kal (96h) magasabb a *protokatekin*-tartalom. A fertőzött és fertőzetlen kezelés közötti jelentős eltérés ellenére a különbség nem szignifikáns. Ehhez képest 216 órával a fertőzést követően szignifikánsan magas koncentrációt mértünk mind a kontrollhoz ($t_{216h \text{ kontroll} - 216h$

fertőzött=4,837; $p=0,008$), mind a természetes protokatekin aktivitáshoz ($t_{0h} - 216h$ fertőzött=-4,085; $p=0,015$) viszonyítva. A 'Hartley' esetében az inkubációs időszak első szakaszában jelentős szintézis csökkenés figyelhető meg. A 216 órás mintavételezési időpontban az aktivitás megközelíti a természetes mennyiséget. A protokatekin változása mind a fertőzött mind a kontroll zöldburokban hasonló tendenciájú.



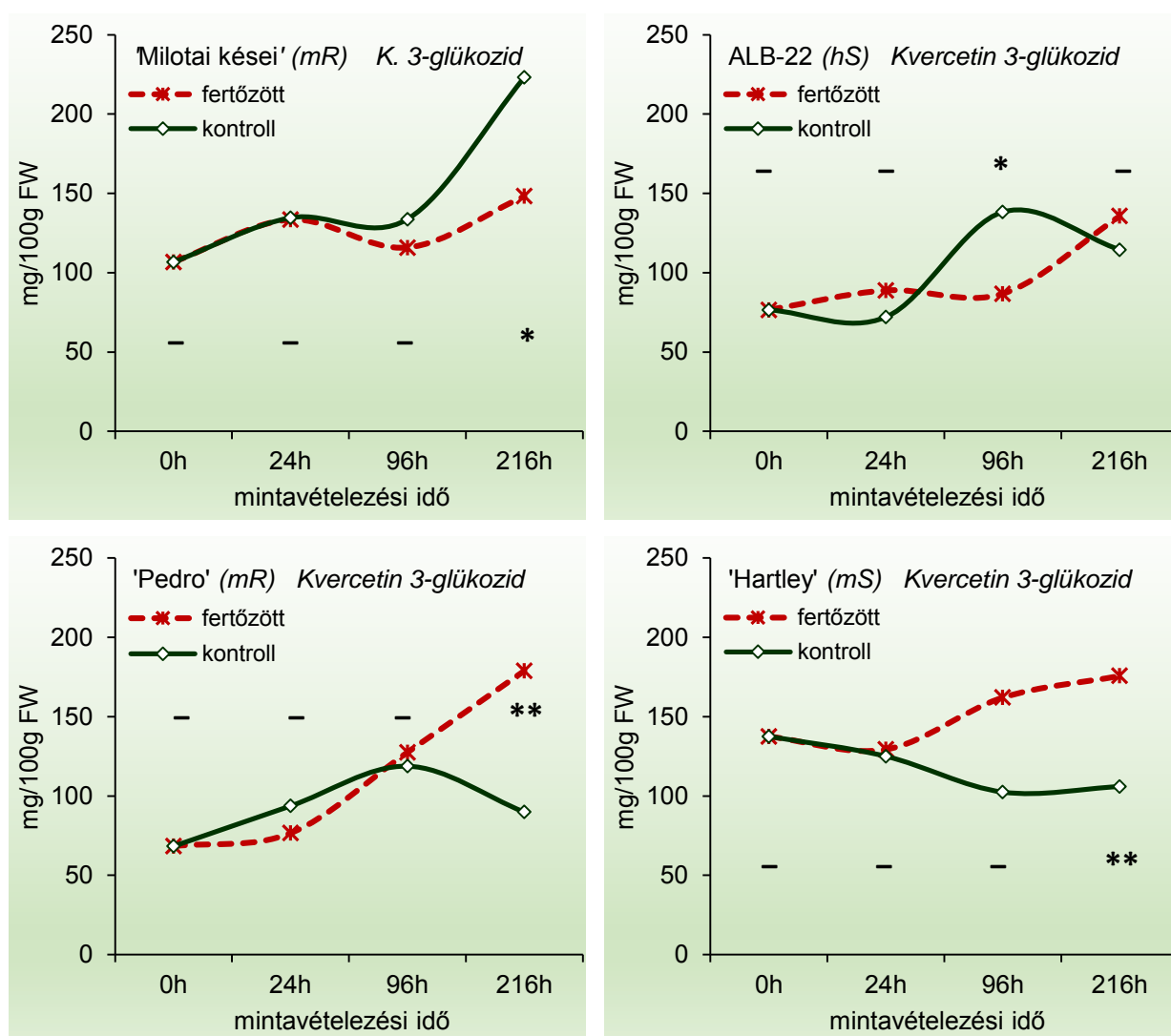
31. ábra. A protokatekin mérhető mennyiségének változása a különböző fajták esetében a mesterséges fertőzés hatására. A különböző időpontokban a fenoltartalom átlagos értékei vannak feltüntetve. Az ábrákon a különböző mintavételezési időpontokban a fertőzött- és a kontroll átlagértékei közötti szignifikancia vizsgálat eredménye látható az alábbi módon:

***: $p \leq 0,001$; **: $p \leq 0,01$; -: nem szignifikáns

A flavonolok csoportjából a kvercetin 3-glükózid, kvercitrin, kvercetin, rutin vegyületek változását mértük.

A *kvercetin 3-glükozid* természetes aktivitása a vizsgálatba vont szelekció és fajták esetében igen széles értékintervallumot fog át. A 'Hartley' éretlen terméseinek zöldburkában mértük a legmagasabb mennyiségben (137,55 mg/100 g FW). Ezt követi a 'Milotai kései', majd az ALB-22 szelekció. Legalacsonyabb mennyiséget a 'Pedro' zöldburkában mértünk (68,30 mg/100 g FW) (32. ábra).

A különböző fogékonysággal rendelkező fajták terméseiben a fertőzés hatására eltérő módon aktiválódott a vizsgált fenolvegyület. Különböző az aktivitás a két mérsékelt rezisztens fajta esetében.



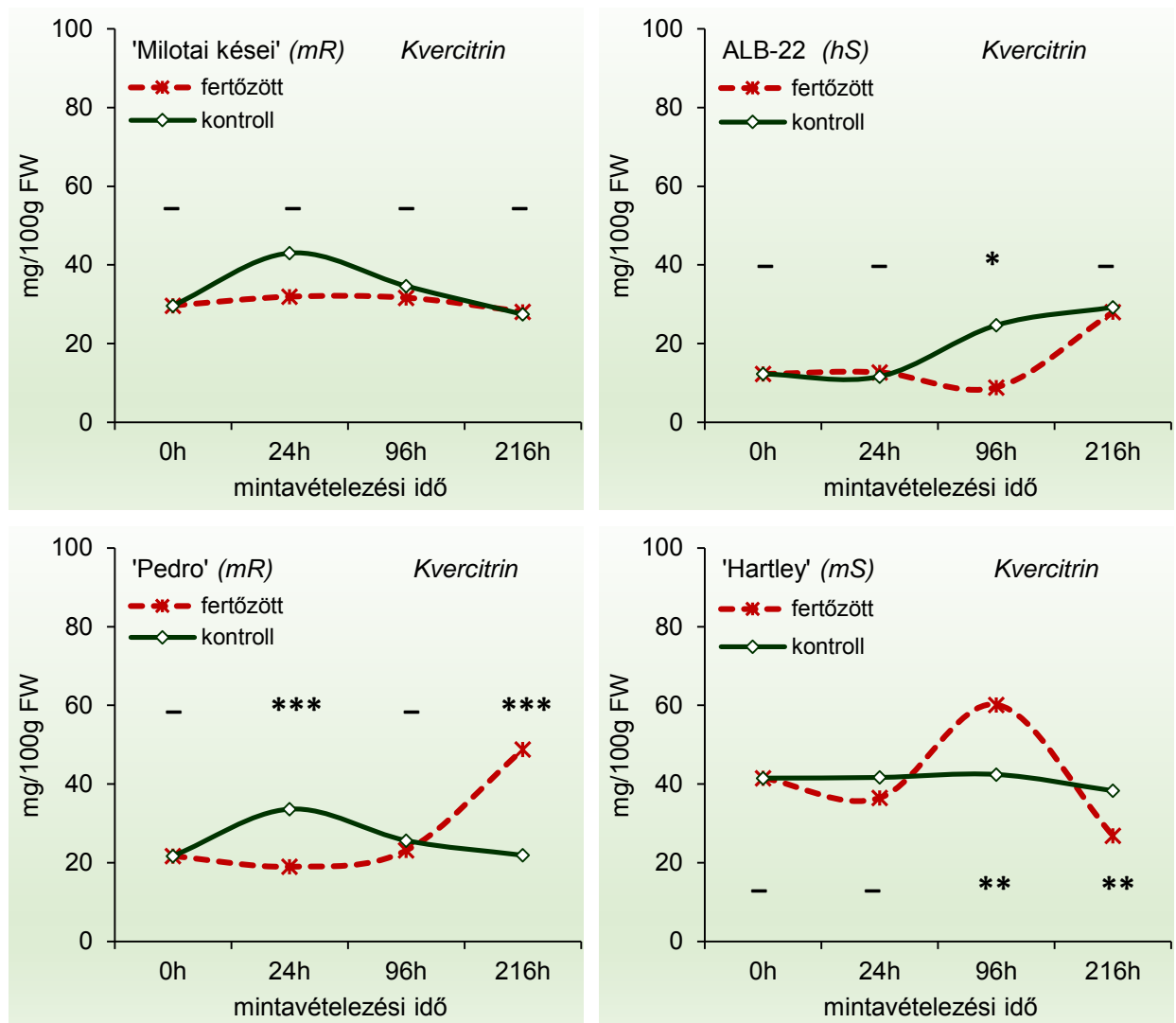
32. ábra. A kvercetin 3-glükozid mérhető mennyiségének változása a különböző fajták esetében a mesterséges fertőzés hatására. A különböző időpontokban a fenoltartalom átlagos értékei vannak feltüntetve. Az ábrákon a különböző mintavételezési időpontokban a fertőzött- és a kontroll átlagértékei közötti szignifikancia vizsgálat eredménye látható az alábbi módon:

** : $p \leq 0,01$; * : $p \leq 0,05$; - : nem szignifikáns

A 'Milotai kései' előállítás során apaszülőként alkalmazott 'Pedro' kvercetin 3-glükozid tartalma 216 órával a fertőzést követően szignifikánsan megnő a kontrollhoz viszonyítva ($t_{216h \text{ kontroll} - 216h \text{ fertőzött}}=5,586$; $p=0,005$). A 'Milotai kései' ezzel szemben, annak ellenére, hogy a fertőzött termékekben tapasztalható egy kisebb mértékű emelkedés 24 órával a fertőzés után, a 96 órás minták fenol aktivitása 16,21%-kal alacsonyabb az előző mintaszedési időponthoz viszonyítva. Továbbá a 24 órás mintavételezési időpontban a fertőzött és a kontroll termékek kvercetin 3-glükozid aktivitása azonos. A 216 órával a fertőzést követően a vizsgált fenolvegyület aktivitása itt a legmagasabb (148,20 mg/100 g FW), azonban a kontroll termékekben 33,58%-kal magasabb szintézist mértünk. A mérsékelt fogékony 'Hartley' fertőzött termékeiben 96 és 216 órás mintavételezések eredményei alapján jelentős emelkedést állapíthatunk meg. A kontroll termékek kvercetin 3-glükozid tartalma viszont folyamatos csökkenést mutat az inkubációs időszak folyamán. A fertőzött és kontroll termékek kvercetin 3-glükozid aktivitása között nagy szignifikáns különbséget ($t_{216h \text{ kontroll} - 216h \text{ fertőzött}}=6,127$; $p=0,004$) állapítottunk meg a 216 órás mintavételezési adatok esetében. A nagyon fogékony ALB-22 szelekció termékeiben 24 órával a fertőzést követően kissé emelkedik a kvercetin 3-glükozid mennyisége, majd a kilencedik napon éri el a legmagasabb szintet (135,70 mg/100 g FW). A kontroll termékekben az inkubációs idő kezdetétől már 96 órával 138,28 mg/100 g FW mennyiséget mértünk.

A *kvercitrin* tartalom természetes mennyisége változatos képet nyújt a vizsgálatba vont szelekció és fajták tekintetében (33. ábra). Az ALB-22 éretlen termékeiben 12,30 mg/100 g FW mennyiségben fordul elő, míg a 'Hartley' esetében 41,51 mg/100 g FW a mérhető természetes kvercitrin aktivitás. A fertőzést követően 216 órával, illetve 96 órával észlelhető a szintézis növekedése a 'Pedro' és a 'Hartley' esetében. A fertőzés hatására megnövekedett aktivitás a kontroll kezeléshez viszonyítva szignifikánsan különbözik a fent megnevezett mintavételezési időpontokban ($t_{216h \text{ kontroll} - 216h \text{ fertőzött}}=10,496$, $p=0,001$; $t_{96h \text{ kontroll} - 96h \text{ fertőzött}}=5,462$, $p=0,005$).

A mérsékelt rezisztens 'Milotai kései' és 'Pedro' kontroll termékeiben a 24 órás mintavételezési időpont mérési adatai szerint a kvercitrin aktivitása 25,74%-kal, illetve 43,50%-kal emelkedett a fertőzött termékek szintéziséhez viszonyítva. Az inkubációs időtartam előrehaladtával azonban visszacsökken a természetes aktivitás szintjére mindkét fajta esetében.

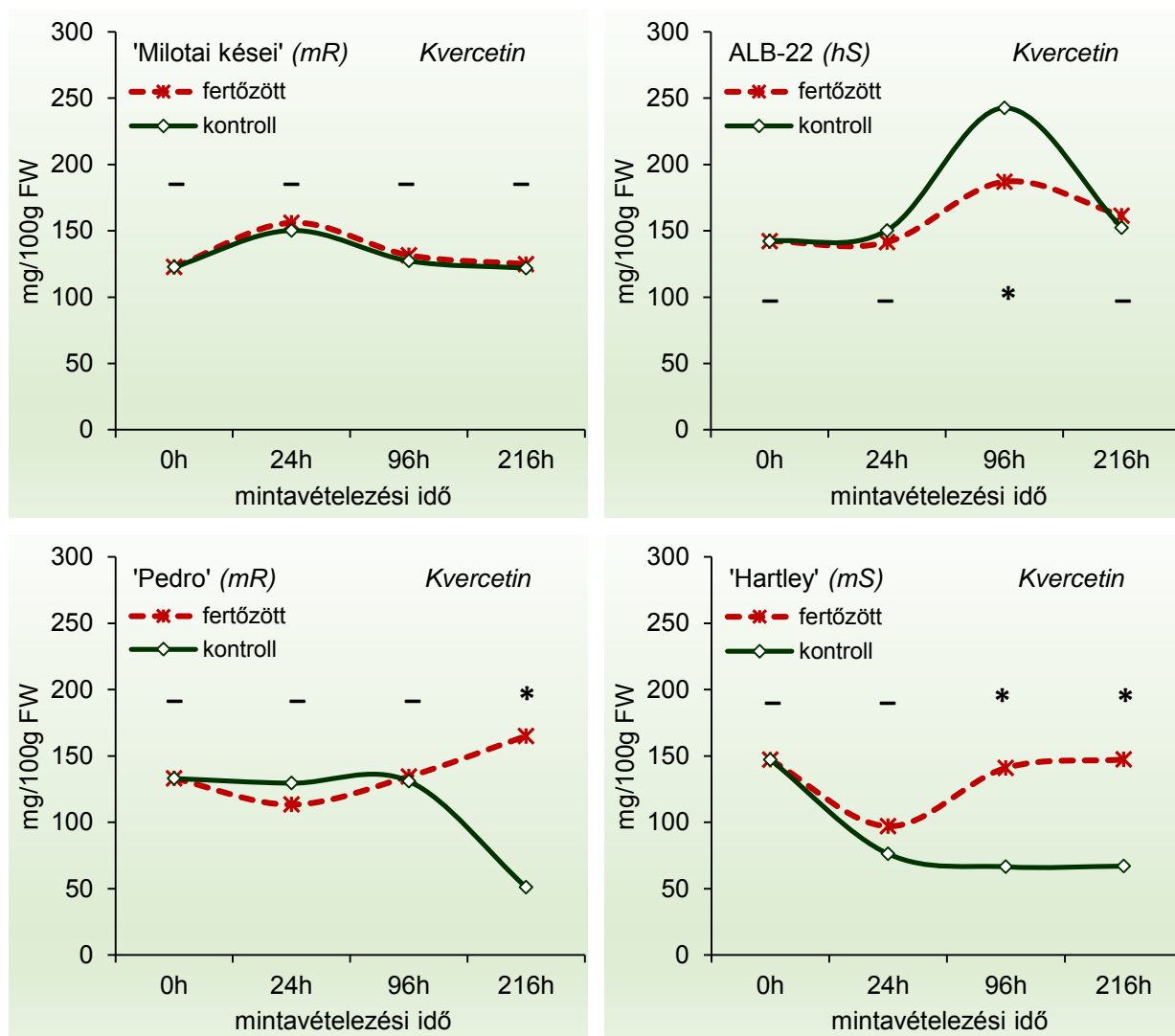


33. ábra. A kvercitrin mérhető mennyiségének változása a különböző fajták esetében a mesterséges fertőzés hatására. A különböző időpontokban a fenoltartalom átlagos értékei (n=3) vannak feltüntetve. Az ábrákon a különböző mintavételezési időpontokban a fertőzött- és a kontroll átlagértékei közötti szignifikancia vizsgálat eredménye látható az alábbi módon:

***: $p \leq 0,001$; **: $p \leq 0,01$; *: $p \leq 0,05$; -: nem szignifikáns

A terméshurok természetes *kvercitrin* tartalma a 0. órás mintavételezési adatok alapján nem mutat nagy eltérést. A vizsgálatba vont fajták közül a 'Milotai kései' tartalmazza a legalacsonyabb mértékben (122,65 mg/100 g FW). Az ALB-22 (142,20 mg/100 g FW) és a 'Hartley' (147,29 mg/100 g FW) *exo*- és *mezocarpium*ában közel azonos mennyiségben van jelen. A fertőzést követő inkubációs időszak folyamán a 'Milotai kései' esetében mind a fertőzött, mind a kontroll termésekben közel azonos mértékben változik a vizsgált fenolvegyszer aktivitása (34. ábra). A hasonló fogékonysággal rendelkező 'Pedro' kvercitrin aktivitásában a 96 órás mintavételezési időpontig nincs különbség a két kezelés között. Viszont az utolsó mintavételezés adatai alapján szignifikáns különbség

($Z_{216h \text{ kontroll} - 216h \text{ fertőzött}} = -1,964$; $p=0,05$) állapítható meg a fertőzött és nem fertőzött termések kvercetin mennyisége tekintetében.



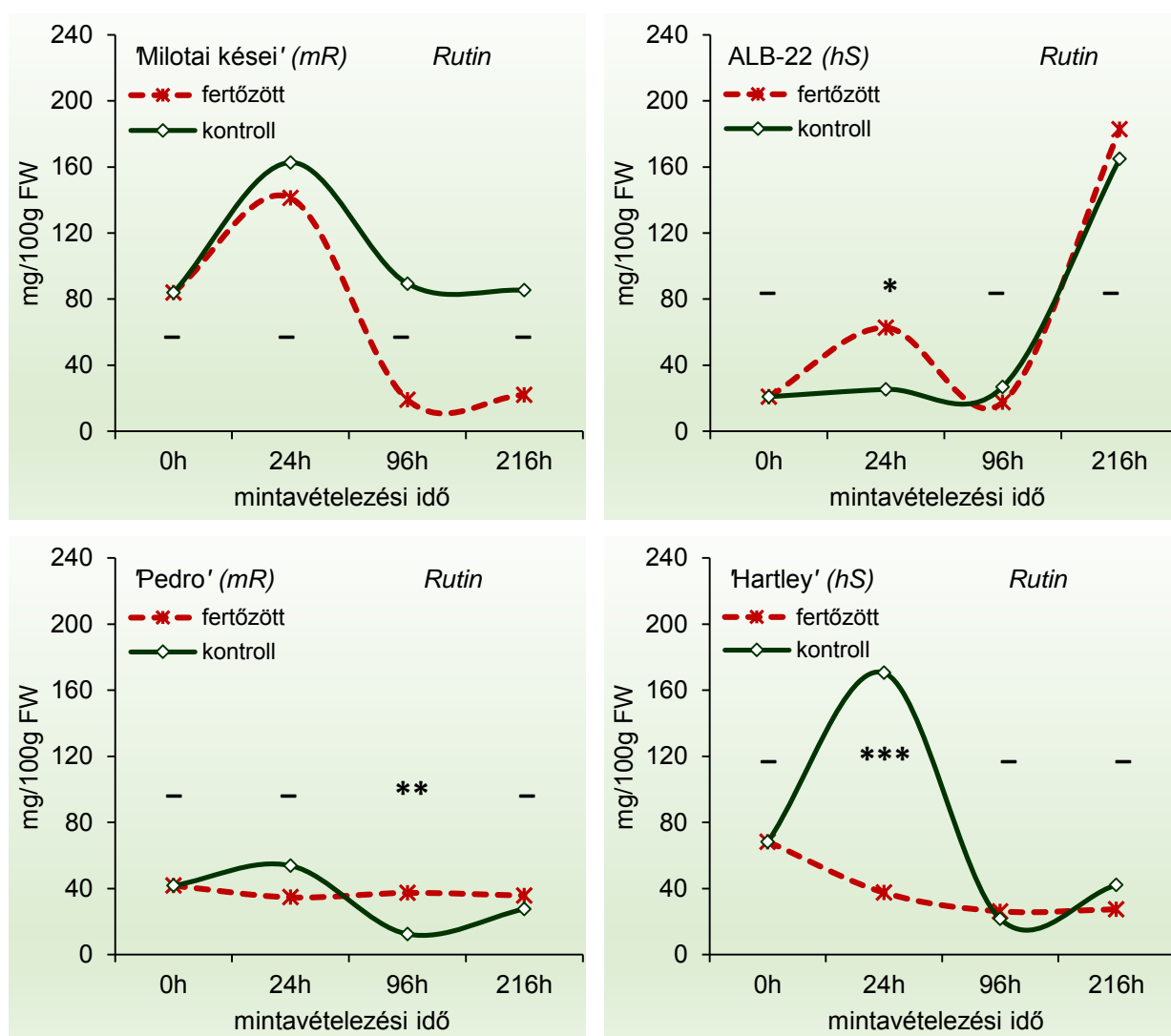
34. ábra. A kvercetin mérhető mennyiségének változása a különböző fajták esetében a mesterséges fertőzés hatására. A különböző időpontokban a fenoltartalom átlagos értékei vannak feltüntetve. Az ábrákon a különböző mintavételezési időpontokban a fertőzött- és a kontroll átlagértékei közötti szignifikancia vizsgálat eredménye látható az alábbi módon:

*: $p \leq 0,05$; –: nem szignifikáns

A mérsékelten fogékony 'Hartley' terméseiben ugyancsak jelentős eltérés mutatkozik a két kezelés között. A fertőzött termésekben 96 óra elteltével igen nagy szignifikáns különbség ($t_{96h \text{ kontroll} - 96h \text{ fertőzött}} = 4,426$; $p=0,011$) tapasztalható. A 216 órás minták ugyancsak szignifikánsan magasabb aktivitást mutatnak a kontrollhoz viszonyítva ($t_{216h \text{ kontroll} - 216h \text{ fertőzött}} = 3,624$; $p=0,002$). Az ALB-22 szelekció kvercetin szintje a fertőzés után 96 óra elteltével mutat jelentős emelkedést a természetes aktivitáshoz viszonyítva. Azonban a kontroll termésekben a kvercetin szintézis 22,92%-kal

magasabb, mint a fertőzött termésekben. A kilencedik napra mindkét kezelés esetében visszaáll a természetes szintjére a kvercetin aktivitása.

A rutin mennyisége az éretlen diótermések zöldburkában igen változatos mennyiségben fordul elő mérési eredményeink alapján. A Magyarországon nemesített 'Milotai kései' zöldburok mintáiban mértük a legmagasabb értéket (83,97 mg/100 g FW). A 'Pedro' esetében 50,30%-kal alacsonyabb a rutin tartalom. Az ALB-22 termések természetes szintézise mindössze 20,96 mg/100 g FW (35. ábra).



35. ábra. A rutin mérhető mennyiségének változása a különböző fajták esetében a mesterséges fertőzés hatására. A különböző időpontokban a fenoltartalom átlagos értékei vannak feltüntetve. Az ábrákon a különböző mintavételezési időpontokban a fertőzött- és a kontroll átlagértékei közötti szignifikancia vizsgálat eredménye látható az alábbi módon:

***: $p \leq 0,001$; **: $p \leq 0,01$; *: $p \leq 0,05$; -: nem szignifikáns

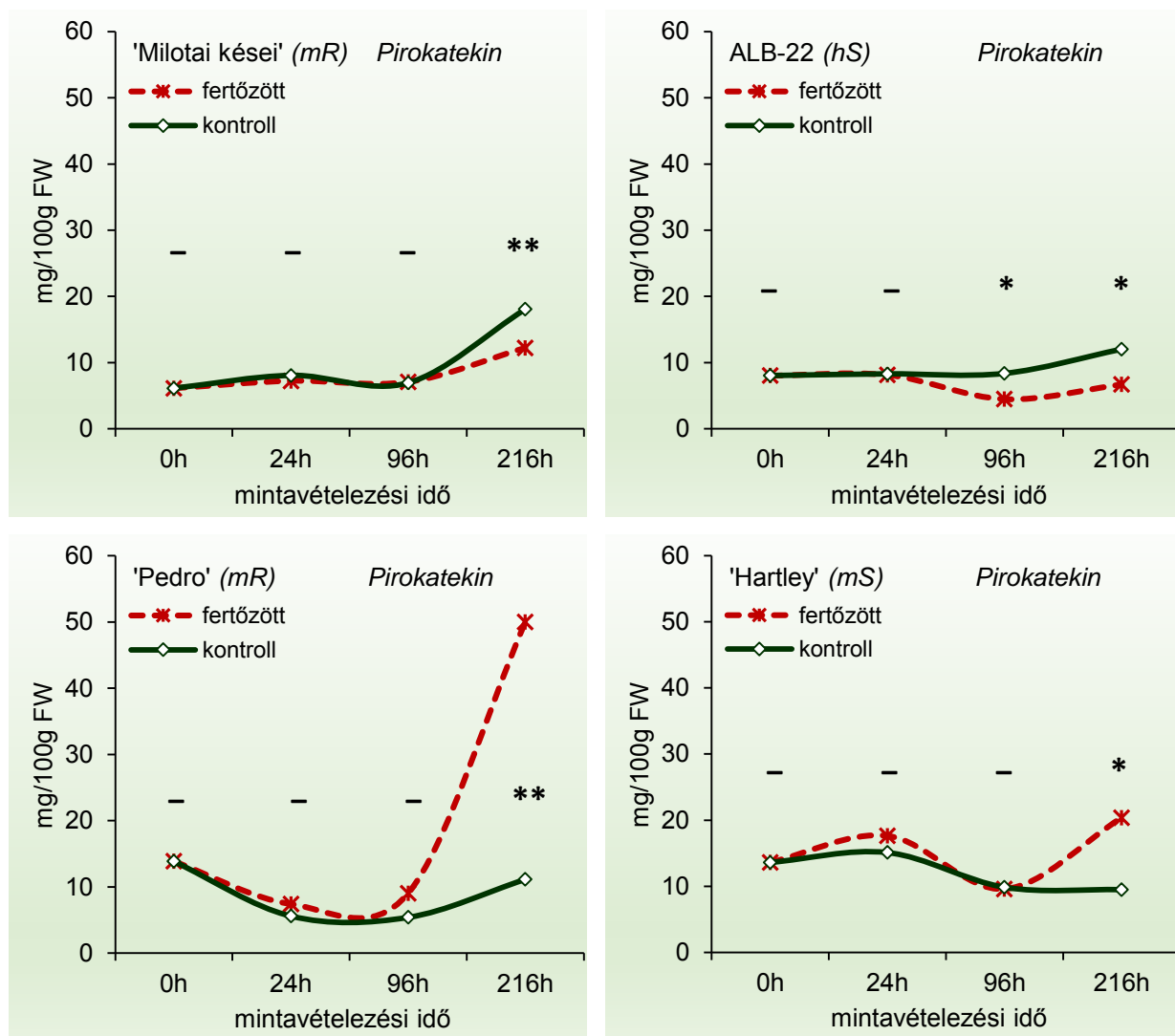
A fertőzés okozta stresszhatás következtében a rutin aktivitása igen széles határértékek között változik, valamint a szintézis alakulása nincs összhangban a vizsgálatba vont fajták xantomonasz fogékonyságával. A mérsékelt rezisztens két fajta ('Milotai kései' és 'Pedro') rutin szintézise jelentős különbséget mutat. A 'Pedro' fertőzött terméseiben az inkubációs időszak folyamán csekély eltérés mutatkozik a természetes rutin aktivitáshoz viszonyítva. A 'Milotai kései' fertőzött és kontroll terméseiben jelentős aktivitás növekedést mértünk 24 órával az inkubáció kezdetétől. A szintézis emelkedése a természetes szinthez viszonyítva a fertőzött termésekben 40,59%-kal, míg a kontroll termésekben 48,38%-kal bizonyult magasabbnak. A későbbi mintavételezési időpontok eredményei alapján a kontroll termések mérhető rutin koncentrációja visszacsökken a természetes aktivitás szintjére, míg a fertőzött termésekben jelentős szintézis csökkenés következett be. Az inkubációs idő folyamán a kontroll és a fertőzött termések közötti különbséget statisztikai értékeléssel nem tudtuk bizonyítani, ami a kezelésenkénti minták rutintartalmának jelentős szórása okoz. A mérsékelt fogékony 'Hartley' esetében ugyancsak nagyobb rutin mennyiséget mértünk a kontroll termésekben, mint a fertőzöttek esetében. A két kezelés között igen nagy szignifikáns különbség ($t_{24h \text{ kontroll} - 24h \text{ fertőzött}} = -15,861$; $p < 0,001$) állapítható meg a 24 órás mintavételezési időpontban. A fertőzött termésekben folyamatos szintézis csökkenést dedektáltunk. A nagyon fogékony ALB-22 esetében 24 órával a fertőzést követően szignifikánsan ($Z_{24h \text{ kontroll} - 24h \text{ fertőzött}} = -1,964$; $p = 0,05$) megnövekedik a rutin aktivitása a kontroll termésekhez viszonyítva. A 96 órás mintavételezési időpontban visszacsökken a természetes szintre, majd 216 órával a fertőzést követően a kimagasló koncentrációban szintetizálódik. Azonban a kontroll termésekben ugyancsak ilyen mértékű rutin aktivitást mértünk.

A *flavanolok* csoportjából a *pirokatekin*, (+)-*katekin* és (-)-*epikatekin* fenolvegyületek alakulását vizsgáltuk.

A *pirokatekin* a fajta fogékonyságától függetlenül természetes aktivitása 6,13 mg/100 g FW ('Milotai kései') és 13,84 mg/100 g FW ('Pedro') között változott (36. ábra).

A fertőzés hatására, azonban aktivitása nem mutat egyértelmű emelkedést a kontroll termésekhez viszonyítva. Ez alól kivétel a mérsékelt rezisztens 'Pedro', melynek fertőzött terméseiben 216 órával a fertőzést követően 77,74%-kal magasabb koncentrációt mértünk, mint a kontroll termésekben. A hasonlóan mérsékelt rezisztenciával rendelkező 'Milotai kései' esetében 24- és 96 órával a fertőzést követően nem tapasztalható szintézis különbség mind a kontroll, mind a természetes aktivitáshoz viszonyítva. A 216 órás mintavételezési időpontban nagy szignifikáns különbséget ($t_{216 \text{ kontroll} - 216h \text{ fertőzött}} = -5,829$; $p = 0,004$) állapíthatunk meg a kontroll termések növekedett pirokatekin aktivitásának köszönhetően. A nagyon fogékony ALB-22 esetében nem tapasztalható pozitív válaszreakció a fertőzés hatására. Az éretlen terméseiben a vizsgált

fenolvegyület változásának tendenciája közel hasonló a 'Milotai kései' fajtához. A mérsékeltén fogékony 'Hartley' pirokatekin szintézisében nincs szignifikáns különbség az inkubáció kezdetétől 24 és 96 órában vett minták mérési eredményei alapján. 216 órával a fertőzést követően 33,12%-kal magasabb aktivitást mértünk a természetes szinthez viszonyítva. A kontroll termések pirokatekin tartalmához viszonyítva a különbség szignifikáns ($Z_{216 \text{ kontroll} - 216h \text{ fertőzött}} = -2,087$; $p=0,037$).

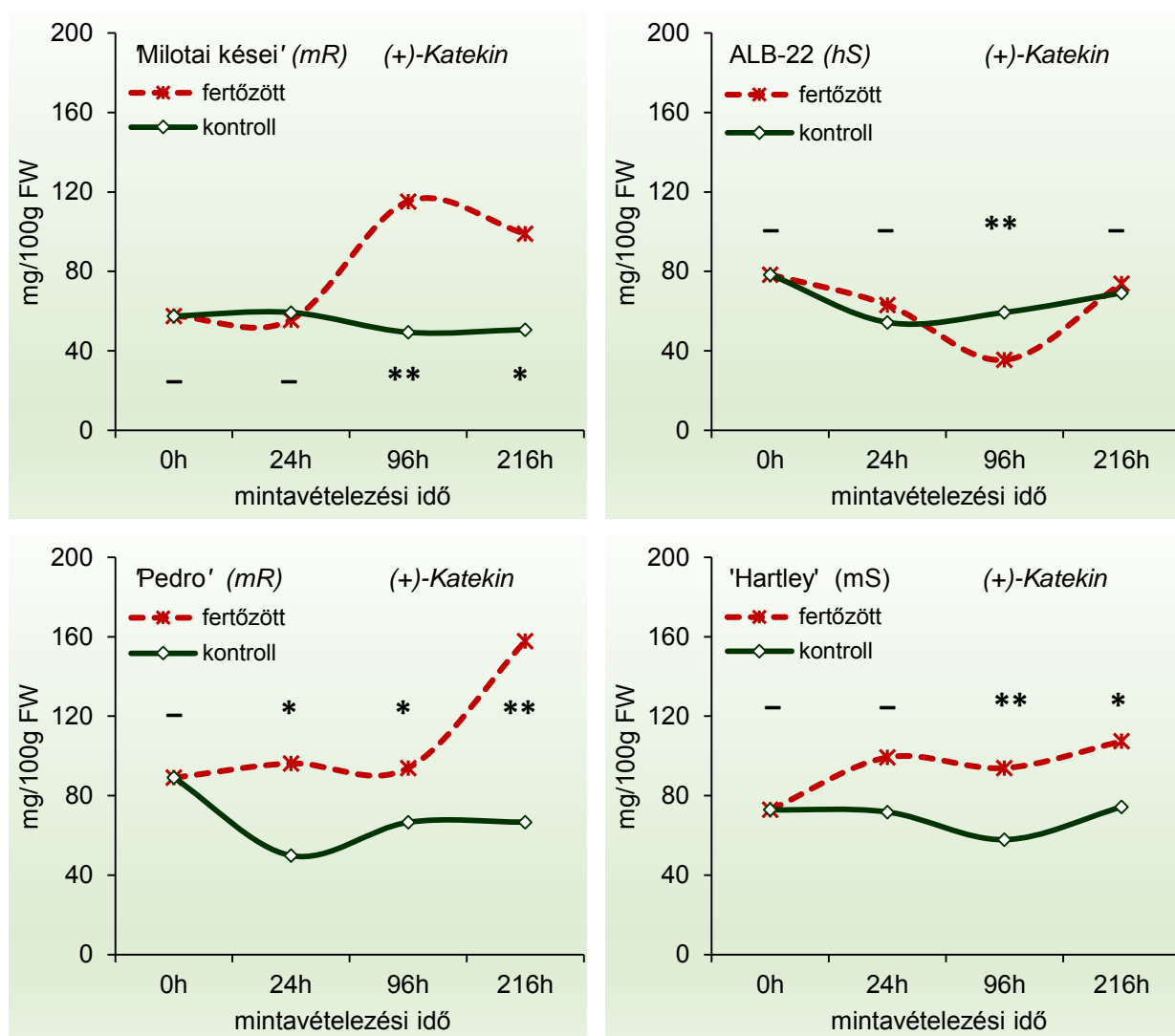


36. ábra. A pirokatekin mérhető mennyiségének változása a különböző fajták esetében a mesterséges fertőzés hatására. A különböző időpontokban a fenoltartalom átlagos értékei vannak feltüntetve. Az ábrákon a különböző mintavételezési időpontokban a fertőzött- és a kontroll átlagértékei közötti szignifikancia vizsgálat eredménye látható az alábbi módon:

** : $p \leq 0,01$; * : $p \leq 0,05$; - : nem szignifikáns

A (+)-katekin természetes mennyisége szűk értékhatár között változik a vizsgált fajták éretlen terméseinek zöldburkában (37. ábra). A legnagyobb és a legalacsonyabb mennyiség közötti

különbség 31,5 mg/100 g FW. A fertőzés hatására a nagyon fogékony ALB-22 szelekció kivételével mindhárom vizsgált fajta terméseiben jelentős mértékű szintézis növekedés állapítható meg. Kimagasló aktivitást mértünk a mérsékelt rezisztens 'Pedro' terméseinek zöldburkában 216 órával a fertőzés után elérve a 157,77 mg/100 g FW koncentrációt. A kontroll termések átlagos (+)-katekin tartalmához viszonyítva nagy szignifikáns különbség állapítható meg ($t_{216h \text{ kontroll} - 216h \text{ fertőzött}}=8,489$; $p=0,013$).



37. ábra. A (+)-katekin mérhető mennyiségének változása a különböző fajták esetében a mesterséges fertőzés hatására. A különböző időpontokban a fenoltartalom átlagos értékei vannak feltüntetve. Az ábrákon a különböző mintavételezési időpontokban a fertőzött- és a kontroll átlagértékei közötti szignifikancia vizsgálat eredménye látható az alábbi módon:

** $p \leq 0,01$; * $p \leq 0,05$; —: nem szignifikáns

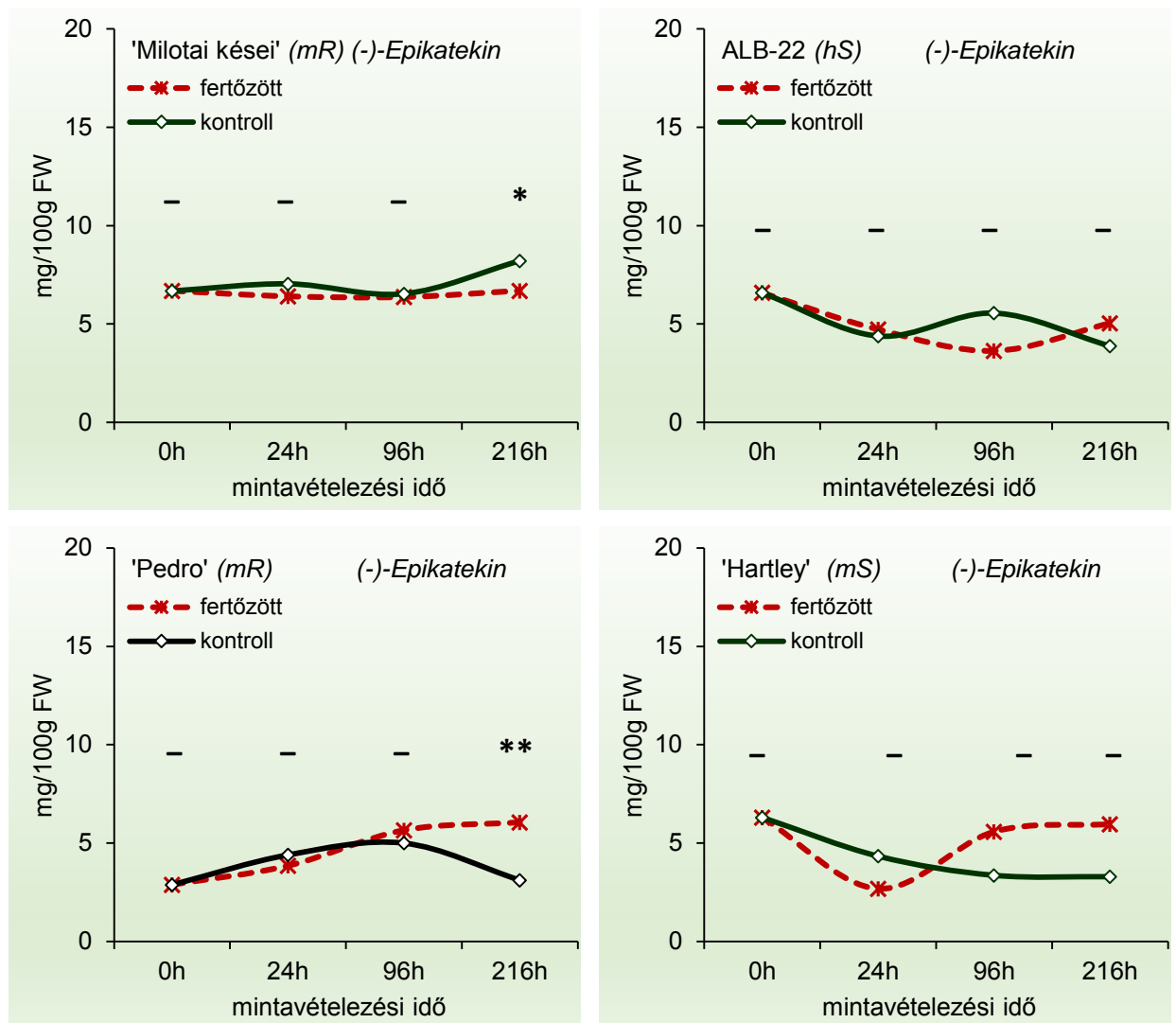
A 'Pedro'-hoz hasonló mérsékelt rezisztenciával rendelkező 'Milotai kései' esetében 96 órával a fertőzést követően 50%-kal szignifikánsan magasabb ($t_{0h} - 96h \text{ fertőzött} = -4,483$; $p=0,011$) koncentrációt mértünk, mint az éretlen termések zöldburkának természetes (+)-katekin aktivitása. Ugyanakkor a 96 órás mintavételezési időpontban a kontroll és a fertőzött termések szintézise között hasonlóan nagy szignifikáns különbség tapasztalható ($t_{96h \text{ kontroll}} - 96h \text{ fertőzött} = 7,140$; $p=0,002$). 120 órával később valamelyest csökken a fertőzött termésekben a szintézis mértéke, azonban továbbra is szignifikánsan különbözik mind a kontroll ($t_{216h \text{ kontroll}} - 216h \text{ fertőzött} = 3,087$; $p=0,037$), mind a természetes ($t_{0h} - 216h \text{ fertőzött} = -3,547$; $p=0,024$) aktivitási szinthez viszonyítva.

A mérsékelt fogékony 'Hartley' fertőzött terméseiben az inkubációs időtartam előrehaladtával a (+)-katekin szintézise lineárisan emelkedik. A kontroll termésekben ezzel szemben csökken az aktivitás a 24 és 96 órás mintavételezések esetén, míg a 216 órában a (+)-katekin mennyisége vissza áll a természetes aktivitás szintjére. A fertőzött termésekben 96 és a 216 órában végzett mérések alapján az aktivitás szignifikánsan különbözik a kontroll termések átlagos (+)-katekin tartalmához viszonyítva ($t_{96h \text{ kontroll}} - 96h \text{ fertőzött} = 5,075$, $p=0,007$; $t_{216h \text{ kontroll}} - 216h \text{ fertőzött} = 2,946$, $p=0,042$).

A nagyon fogékony ALB-22 szelekció éretlen terméseiben mind a fertőzött, mind a kontroll kezelés hatására csökken a (+)-katekin szintézise a természetes aktivitás mértékéhez viszonyítva.

Az (-)-epikatekin természetes szintézise az éretlen termésekben alacsony mértékű. Az átlagos értékek 2,87 és 6,30 mg/100 g FW között változnak. A fajták fogékonysága és az (-)-epikatekin aktivitása között nem tapasztaltunk összefüggést (38. ábra).

Mérsékelt rezisztenciával rendelkező 'Milotai kései' és a 'Pedro' (-)-epikatekin szintézise mind a fertőzött, mind a kontroll termésekben az inkubáció kezdetétől 24. és 96. órában vett mintákban hasonló az aktivitás mértéke. A 'Milotai kései' esetében 216 órával az inkubáció kezdetétől a kontroll termésekben megemelkedett (-)-epikatekin szintézis szignifikáns különbséget ($t_{216h \text{ kontroll}} - 216h \text{ fertőzött} = -3,428$; $p=0,027$) ad a fertőzött termések aktivitásához viszonyítva. Ugyanebben az időpontban a 'Pedro' esetében a két kezelés között nagy szignifikáns különbséget ($t_{216h \text{ kontroll}} - 216h \text{ fertőzött} = 6,923$; $p=0,002$) állapítottunk meg, mely a kontroll termések aktivitásának természetes szintre történő visszacsökkenése révén valósul meg.



38. ábra. Az (-)-epikatekin mérhető mennyiségének változása a különböző fajták esetében a mesterséges fertőzés hatására. A különböző időpontokban a fenoltartalom átlagos értékei vannak feltüntetve. A különböző időpontokban a fenoltartalom átlagos értékei találhatóak. Az ábrákon a különböző mintavételezési időpontokban a fertőzött- és a kontroll átlagértékei közötti szignifikancia vizsgálat eredménye látható az alábbi módon:

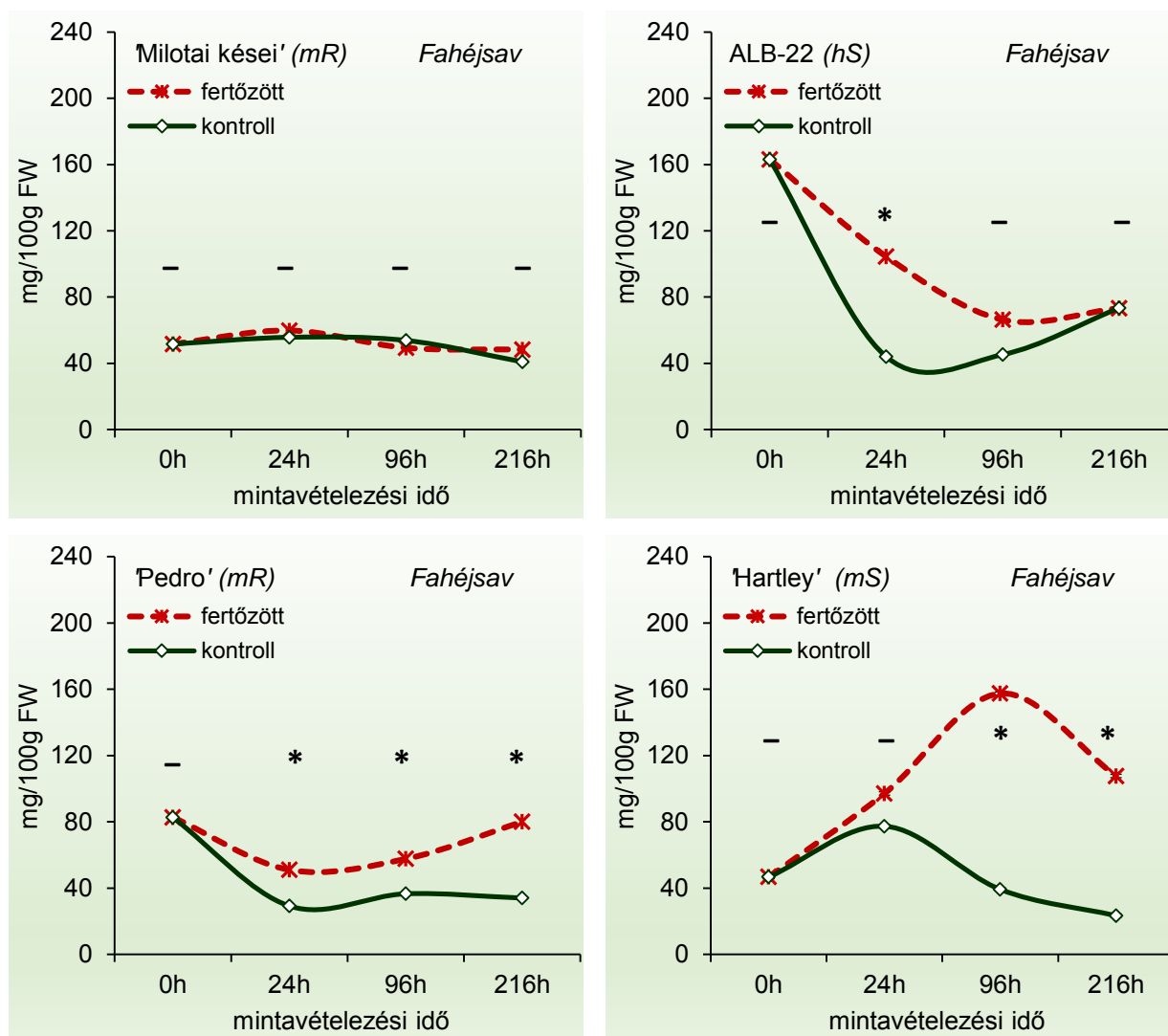
** $p \leq 0,01$; * $p \leq 0,05$; –: nem szignifikáns

A hidroxifahéjsav-származékok közül a fahéjsav és a klorogénsav alakulását vizsgáltuk.

A fahéjsav természetes aktivitása tekintetében igen változatos képet mutatnak a fajták. Legmagasabb mennyiségben az ALB-22 zöldburka tartalmazta (163,127 mg/100 g FW), melyet a 'Pedro' követ 49%-kal alacsonyabb fahéjsav tartalommal. Közel azonosan alacsony a 'Milotai kései' és a 'Hartley' szintézise (39. ábra).

A fertőzést követően igen jelentős aktivitás csökkenést mértünk a nagyon fogékony ALB-22 esetében mind a fertőzött, mind pedig a kontroll termésburok mintákban. Ezzel szemben a mérsékelten fogékony 'Hartley' fahéjsav aktivitása pozitív válaszreakciót mutat a fertőzés

hatására. A természetes (0 órás) mennyiséghez viszonyítva a fertőzést követő 24 órában 48%-kal emelkedik, míg a 96 órás fertőzött termésburok mintákban 70,34%-kal magasabb átlagos koncentrációt állapítottunk meg. Ez az emelkedett fahéjsav szintézis a fertőzés után 216 órával lecsökken a 24 órás mintavételezések átlagos aktivitására. Továbbá megállapítható, hogy a kontroll termések zöldburkában az inkubációs periódus folyamán a csökkenő fahéjsav szintézis és a fertőzött termések fahéjsav tartalma között szignifikáns különbség tapasztalható a 96 órás (Z_{96h} kontroll - 96h fertőzött = -2,087; $p=0,037$) és a 216 órás (Z_{216h} kontroll - 216h fertőzött = -1,964; $p=0,050$) minták esetében.



39. ábra. Az fahéjsav mérhető mennyiségének változása a különböző fajták esetében a mesterséges fertőzés hatására. A különböző időpontokban a fenoltartalom átlagos értékei vannak feltüntetve.

Az ábrákon a különböző mintavételezési időpontokban a fertőzött- és a kontroll átlagértékei közötti szignifikancia vizsgálat eredménye látható az alábbi módon:

*: $p \leq 0,05$; —: nem szignifikáns

A mérsékelt rezisztens ‘Pedro’ éretlen terméseiben a fertőzés után 24- és 96 órával csökken a fahéjsav szintézis. Azonban az inkubációs időszak végére az aktivitás hasonló mértékű a természetes koncentrációhoz. A fertőzést követő 24-, 96- és 216 órában vett termésburok minták átlagos fahéjsav tartalma szignifikánsan különbözik a kontroll termések átlagos értékeihez viszonyítva.

A ‘Milotai kései’ éretlen termései sem a fertőzés, sem a kontroll kezelés hatására nem mutatnak eltérést a fahéjsav szintézise terén a természetes aktivitási szinthez viszonyítva.

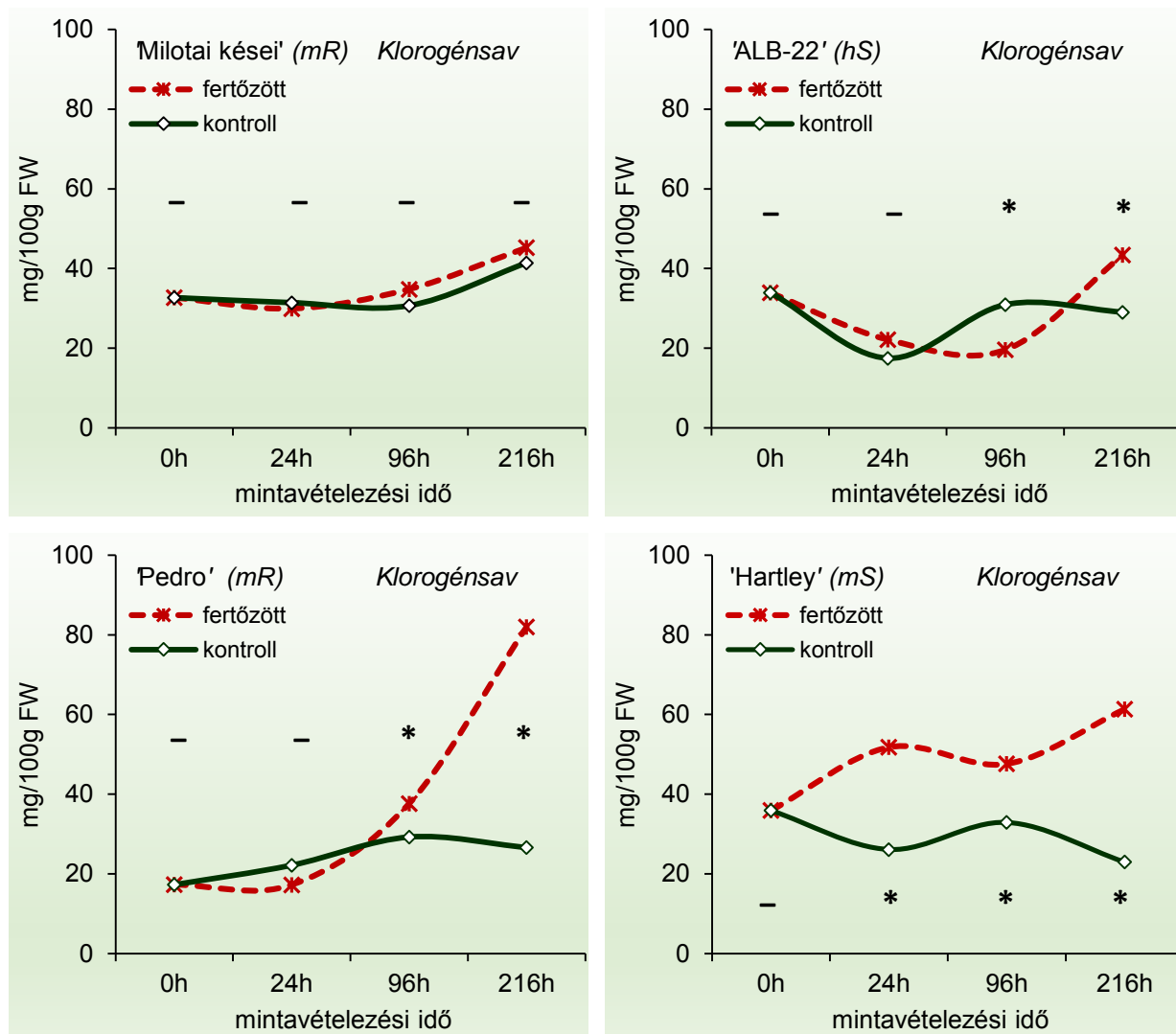
A *klorogénsav* a vizsgált diófajták éretlen terméseiben természetes módon viszonylag változatos koncentrációban fordul elő. Méréseink eredményei alapján az átlagos értékek 17,27 mg/100 g FW és 35,90 mg/100 g FW között változnak (40. ábra). A fertőzés hatására az inkubációs időszak folyamán a mérsékelt rezisztens ‘Pedro’ éretlen terméseiben a baktérium okozta stresszhatásra válaszul kiemelkedően magas klorogénsav szintézis detektálható 96 órával a fertőzés után. A 216 órás mintavételezés eredményei további klorogénsav koncentráció növekedést mutatnak, melynek átlagos értéke 78,94%-kal magasabb a természetes szinthez viszonyítva. A kontroll termésekben ugyanekkor 67,55%-kal alacsonyabb koncentráció állapítható meg. E két kezelés átlagértékei között a különbség szignifikáns ($Z_{216h \text{ kontroll} - 216h \text{ fertőzött}} = -1,964$; $p = 0,050$).

Hasonlóan mérsékelt rezisztenciával rendelkező ‘Milotai kései’ fertőzött terméseiben 216 órával a fertőzés után közel 20%-os szintézis növekedést mértünk a természetes aktivitáshoz viszonyítva, azonban statisztikai szempontból a két átlag közötti szignifikáns eltérés nem igazolható ($t_{216h \text{ kontroll} - 216h \text{ fertőzött}} = -2,036$; $p = 0,111$).

A mérsékelt fogékony ‘Hartley’ fertőzött terméseiben 216 órával a fertőzést követően 41,47%-kal szignifikánsan ($Z_{0h - 216h \text{ fertőzött}} = -1,964$; $p = 0,05$) magasabb a klorogénsav mennyiség a természetes aktivitáshoz viszonyítva. Összehasonlítva a kontroll termések és a fertőzött termések 24-, 96- és 216 órás mintavételezésből származó átlagos értékeiket mindhárom időpontban szignifikáns különbséget ($Z_{24h \text{ kontroll} - 24h \text{ fertőzött}} = -1,964$, $p = 0,05$; $Z_{96h \text{ kontroll} - 96h \text{ fertőzött}} = -1,964$, $p = 0,05$; $Z_{216h \text{ kontroll} - 216h \text{ fertőzött}} = -2,087$; $p = 0,037$) állapítottunk meg. Ez a kontroll termésekben lezajló klorogénsav szintézis jelentős csökkenésének köszönhető.

A nagyon fogékony ALB-22 éretlen terméseiben mindkét kezelés esetében az inkubációs időszak első felében a klorogénsav aktivitása csökkenő tendenciát mutat. A fertőzés után 96 órával további csökkenés figyelhető meg. További 120 órával később emelkedik a klorogénsav mennyisége: a természetes szintézishez viszonyítva 21,75%-kal magasabb értéket ér. Az adatok statisztikai értékelése alapján azonban nincs szignifikáns különbség ($t_{0óra-216óra} = -2,285$; $p = 0,840$). Ugyanakkor

a kontroll és a fertőzött termések átlagos klorogénsav szintézis értékei közötti a különbség szignifikáns ($Z_{\text{kontroll-fertőzött}} = -1,964$; $p = 0,05$).



40. ábra. Az klorogénsav mérhető mennyiségének változása a különböző fajták esetében a mesterséges fertőzés hatására. A különböző időpontokban a fenoltartalom átlagos értékei vannak feltüntetve. Az ábrákon a különböző mintavételezési időpontokban a fertőzött- és a kontroll átlagértékei közötti szignifikancia vizsgálat eredménye látható az alábbi módon:

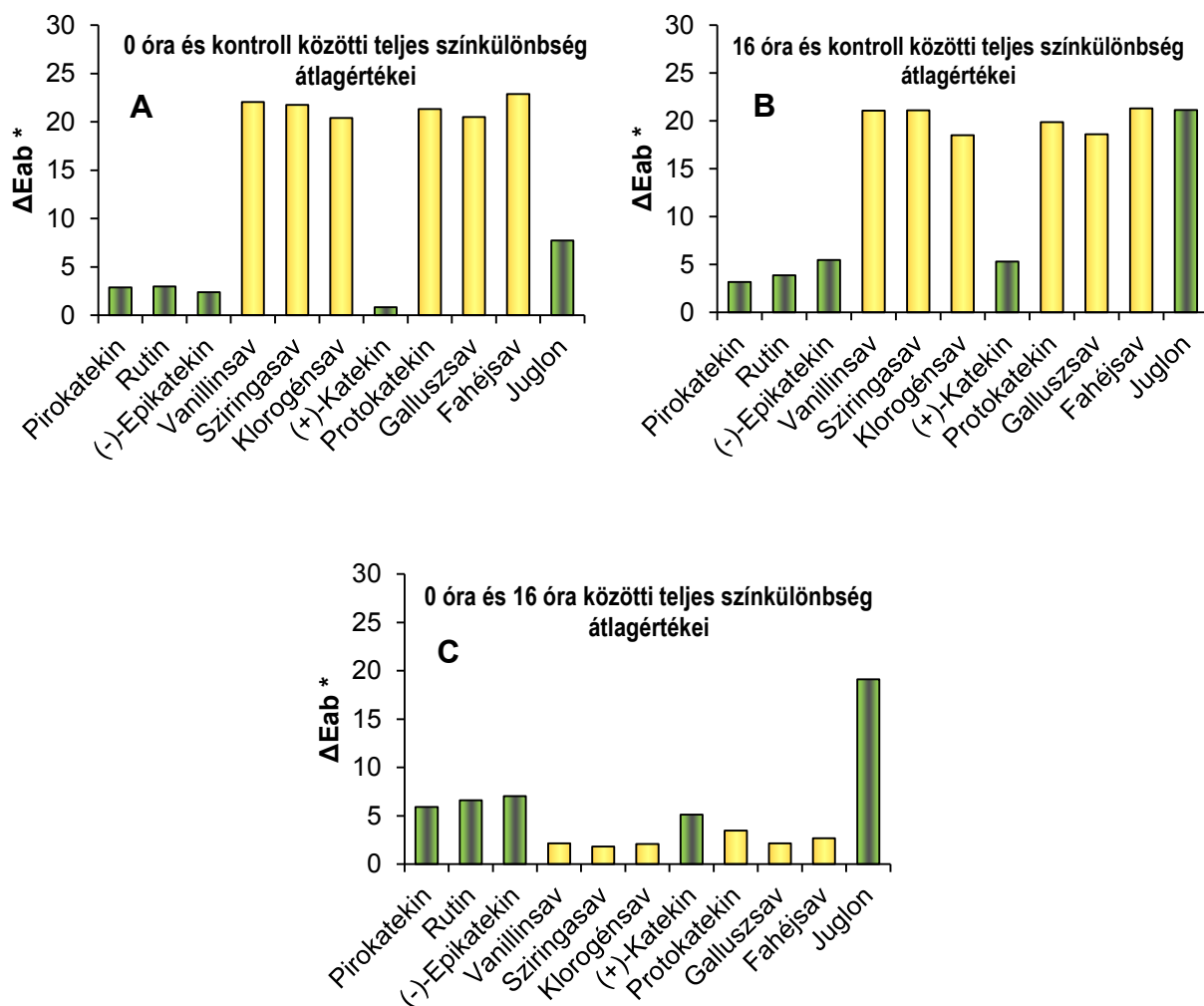
*: $p \leq 0,05$; -: nem szignifikáns

5.5. FENOLVEGYÜLETEK ANTIBAKTERIÁLIS HATÁSA

Annak érdekében, hogy az általunk vizsgálatba vont fenolvegyületek közvetlen antibakteriális hatását megvizsgáljuk, Hevesi *et al.* (2010) spektrofotometriás módszerének fejlesztésével kidolgoztunk egy gyors értékelési módszert, mellyel az MTT-vel való festést követő színváltozást mérni tudtuk. A módszer a dehidrogenáz aktivitást detektáló MTT és a metabolikusan aktív

baktériumsejt kölcsönhatásán alapszik. A világos sárga színt mutató fenolok esetében a baktériumsejtek metabolikusan inaktív állapotba kerültek, esetleg a fenolvegyületek hatására elpusztultak, ezért az MTT-t nem képesek bontani. Ennek következtében marad a sárga szín. Azon fenolvegyületek, melyek nem rendelkeznek antibakteriális hatással, azok esetében a metabolikusan aktív baktériumsejt képes a hozzáadott MTT-t sötét színű MTT-formazánná redukálni (Begue és Kline, 1972; Hamburger és Cordell, 1987). Tehát, a fenolvegyületek antibakteriális hatása a vitális festékekkel láthatóvá tehető. Az élő baktériumsejtek száma és az MTT-formazánná történő átalakulás, azaz a sötét szín intenzitása között lineáris összefüggés van (Stowe *et al.*, 1995). Móricz (2007) szerint a világosabb szín sejtszaporodás (anyagcsere) gátló, míg a sötétebb szín sejtszaporodás serkentő hatást jelzett a vizsgált baktériumok esetében.

5.5.1. AZ ANTIBAKTERIÁLIS HATÁS IGAZOLÁSA FÉNYMÉRÉSEL



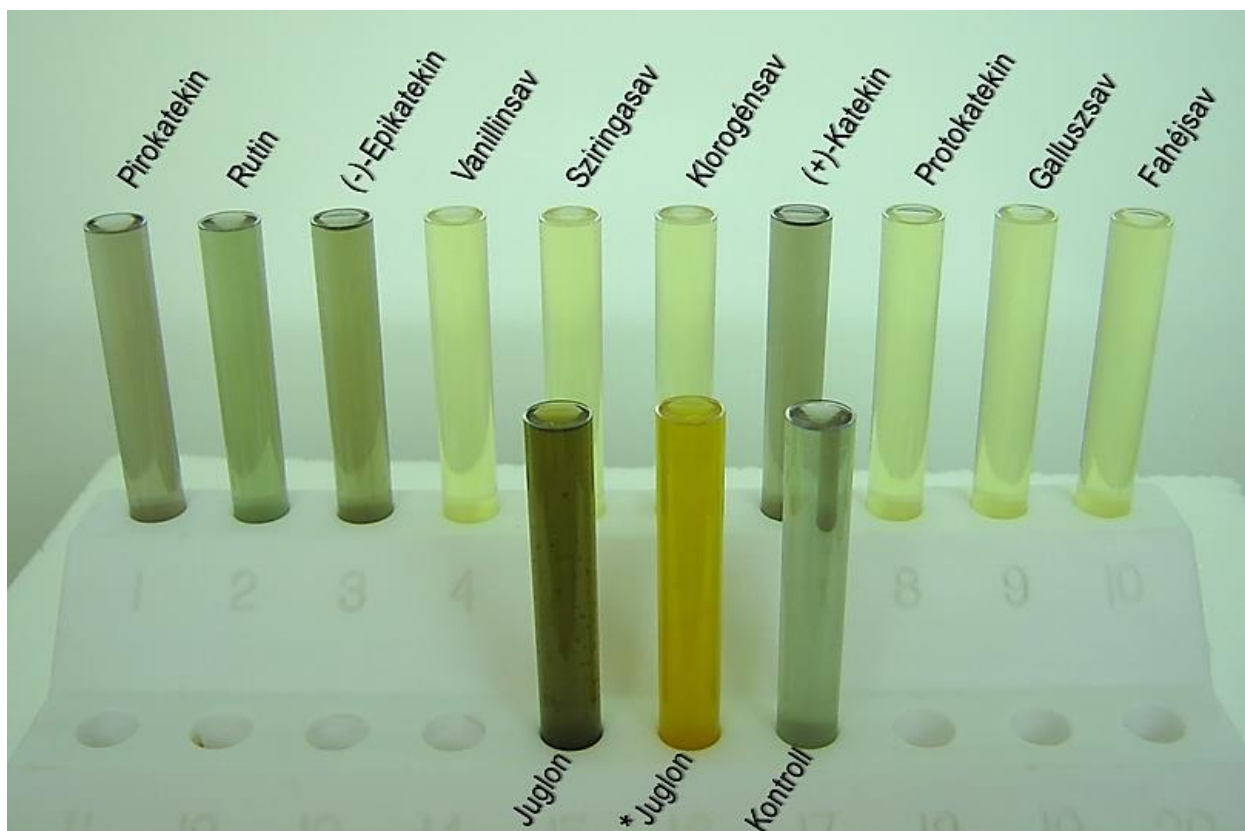
41. ábra. A vizsgált fenolvegyületek antibakteriális hatása a teljes színkülönbség (ΔE^*) szerint

A Konica Minolta CR-400 típusú tristimulusos színmérő műszer alkalmazásával pontos mérési adatokat kaptunk (L^* , a^* , b^* koordináták) az egyes fenolvegyületek hatásáról. Az első színmerést a festést követő 0-ik órában végeztük. A másodikat 16 órával a festést követően. A mérésekből származó L^* , a^* , b^* adatok felhasználásával kiszámoltuk a teljes színekülönbséget (ΔE^*), melyet a világosság (ΔL^*), a króma (ΔC^*) és a színezet (ΔH^*) változásának különbségéből határoztuk meg. A 41/A. ábrán az inokulációtól számított 0. órában kapott színértékek és a kontroll színértéke közötti teljes színekülönbség átlagértékei láthatóak. A 41/B. ábrán az inokulációtól számított 16. órában kapott színértékek és a kontroll színértéke közötti teljes színekülönbség átlagértékei figyelhető meg. Továbbá a 41/C. ábrán az inokulációtól számított 0. órában és 16. órában mért színértékek közötti teljes színekülönbség átlagértékeit mutatjuk be. Ez alapján a legnagyobb színekülönbséget a fahéjsav adta, majd következik a vanillinsav, a sziringasav, a protokatekin, a galluszsav és a klorogénsav. A juglon esetében a színekülönbség megállapítását baktérium szuszpenzió mentes juglon (az 42. ábrán csillaggal jelölve) színéhez viszonyítottuk, mivel a juglon önmagában jellegzetes barnás-sárgás színt mutat. Így a juglon teljes színváltozás értéke 7,75. A pirokatekin, a rutin, az (-)-epikatekin és a (+)-katekin ΔE^* értékei 2,87 és 0,83 között változtak.

A második színmérés (16 órával a festés után) adataiból számolt ΔE^* értékek bizonyos fenolvegyületek esetében emelkedtek. A magasabb ΔE^* értékek a baktériumsejtszám csökkenését tükrözik. Jelentős színekülönbséget állapíthatunk meg a juglon esetében, továbbá azon fenolvegyületeknél szintén magas a színváltozás mértéke, amelyek a 0 órás mérési adatok esetében antibakteriális hatásuk nem volt számottevő.

Az 42. ábrán észlelhető színekülönbségek alátámasztják a különböző fenolvegyületek eltérő antibakteriális hatását.

A két mérési időpont (0-16 óra) közötti legnagyobb teljes színváltozás mértéket a juglon esetében tapasztaltunk. Jól érzékelhető színváltozást a (+)-katekin, a pirokatekin és a protokatekin esetében tapasztaltunk ($\Delta E^*=5,90-3,48$), míg nagy színekülönbség jellemezte az (-)-epikatekin (7,04), a rutin (6,59) fenolokat. Az antibakteriális hatásukat bizonyító fenolok esetében 16 óra elteltével sem volt jelentős színváltozás, mely alapján arra következtetünk, hogy a baktériumsejtekre gyakorolt toxikus hatásuk gyors lefolyású.



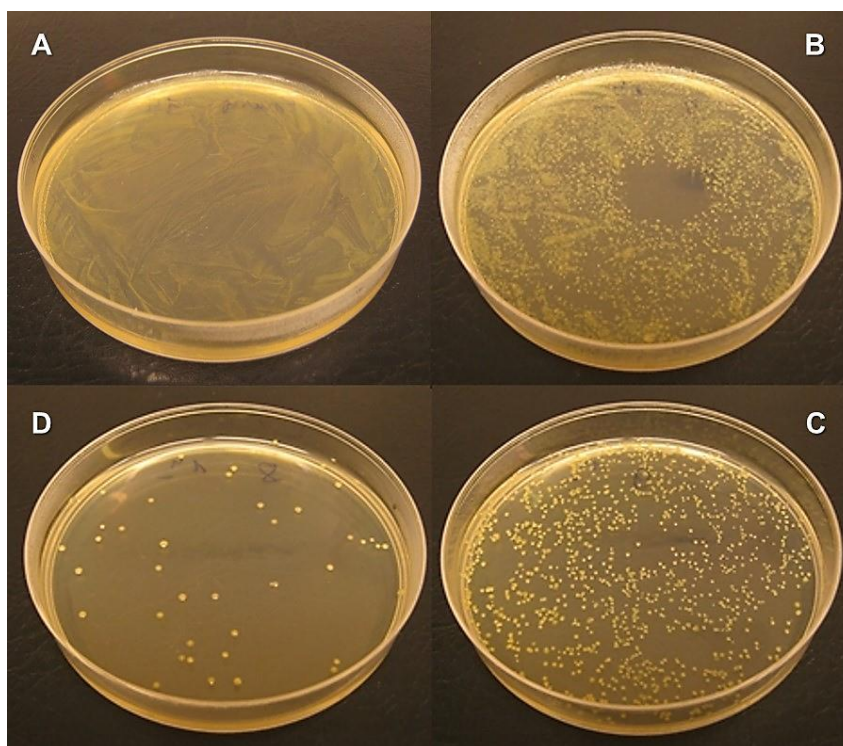
42. ábra. A vizsgálatba vont fenolvegyületek antibakteriális hatása a dió xantomonaszos betegségét okozó *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* baktériumsejtjeire. A sárga szín (színváltozás elmaradása) sejtszaporodás (anyagcsere) gátló, míg a sötétebb szín élő sejt jelenlétét jelzi. A kontroll fenolvegyület nélküli kezelést jelent. A juglon esetében a színváltozás helyes észlelése érdekében saját kontrollt alkalmaztunk, melyhez nem adtunk baktérium szuszpenziót (*Juglon jelöléssel).

5.5.2. AZ ANTIBAKTERIÁLIS HATÁS IGAZOLÁSA LEMEZÖNTÉS MÓDSZERREL

A színváltozás mértékével kapcsolatos eredményeinket jól alátámasztják a 22. táblázatban található baktérium telepszám adatok. A színméréssel, illetve a vizuálisan észlelhető színkülönbségek antibakteriális hatással való összefüggésének ellenőrzése céljából, az inokulációt követően az adott fenolvegyülettel kezelt baktériumszuszenzióból mintát vettünk az élő baktériumszám megállapítása céljából, hígítási sort készítettünk, majd szilárd táptalajra szélesztettük. A kifejlődött telepszámok alapján (43. ábra) azt tapasztaltuk, hogy az inokuláció után 1 és 4 órával jelentős mértékben lecsökkent az élő baktériumsejtek száma. A későbbi időpontokban vett inokulum minták esetében, a rutin kivételével, nem tapasztaltunk telepfejlődést. Azon fenolvegyületek többségénél, amelyek a színváltozás mérése során sárga színűek maradtak, a kolóniaszám ugyancsak alacsonynak bizonyult.

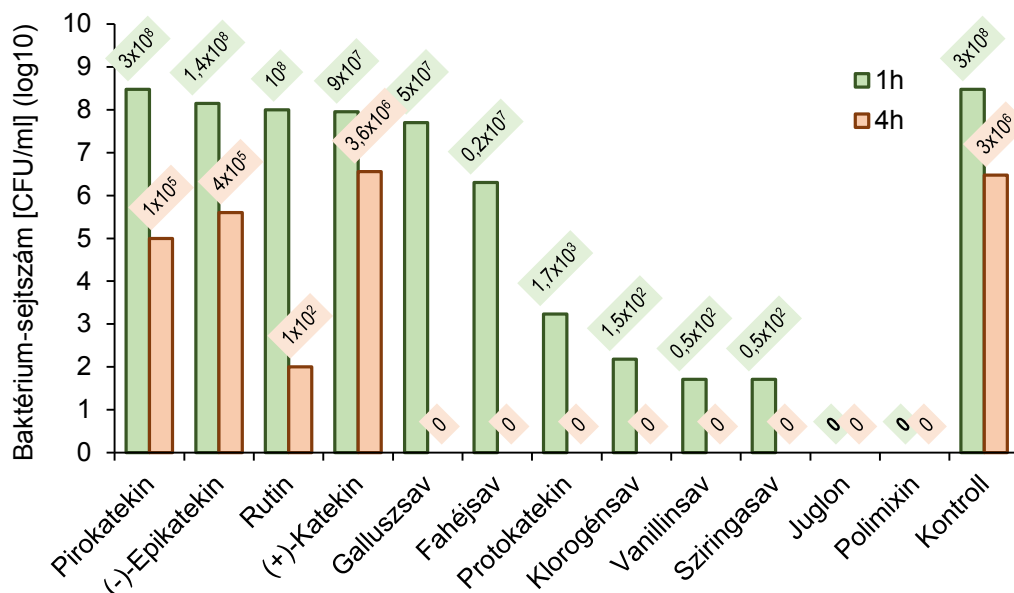
22. táblázat. Az egyes fenolvegyületekkel kevert inokulumokból vett minták *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* baktériumtelepeinek száma (CFU/ml) a különböző időpontokban

Sorszám	Fenolvegyület	0h	10p	1h	4h	24h
1.	Pirokatekin	3×10^8	10^9	3×10^8	1×10^5	0
2.	Rutin	3×10^8	10^9	10^8	1×10^2	0
3.	(-)-Epikatekin	3×10^8	10^8	$1,4 \times 10^8$	4×10^5	0
4.	Vanillinsav	3×10^8	10^8	$0,5 \times 10^2$	0	0
5.	Sziringasav	3×10^8	10^9	$0,5 \times 10^2$	0	0
6.	Klorogénsav	3×10^8	10^8	$1,5 \times 10^2$	0	0
7.	(+)-Katekin	3×10^8	10^8	9×10^7	$3,6 \times 10^6$	0
8.	Protokatekin	3×10^8	10^8	$1,7 \times 10^3$	0	0
9.	Galluszsav	3×10^8	10^8	5×10^7	0	0
10.	Fahéjsav	3×10^8	10^8	$0,2 \times 10^7$	0	0
11.	Juglon	3×10^8	2×10^5	0	0	0
12.	Polimixin	3×10^8	10^8	0	0	0
13.	Kontroll	3×10^8	3×10^8	3×10^8	3×10^6	3×10^6



43. ábra. A pirokatekin (A), a (+)-katekin (B), a klorogénsav (C), a sziringasav (D) fenolvegyületekkel elegyített inokulum minták *X. arboricola* pv. *juglandis* kolóniáinak száma egy óra elteltével az inokuláció után
(Fotó: Bandi Attila)

A 44. ábra mutatja a kinőtt baktérium telepek számát (logaritmikus skálát alkalmazva), mely a szaporodásra képes baktériumok mennyiségével arányos.



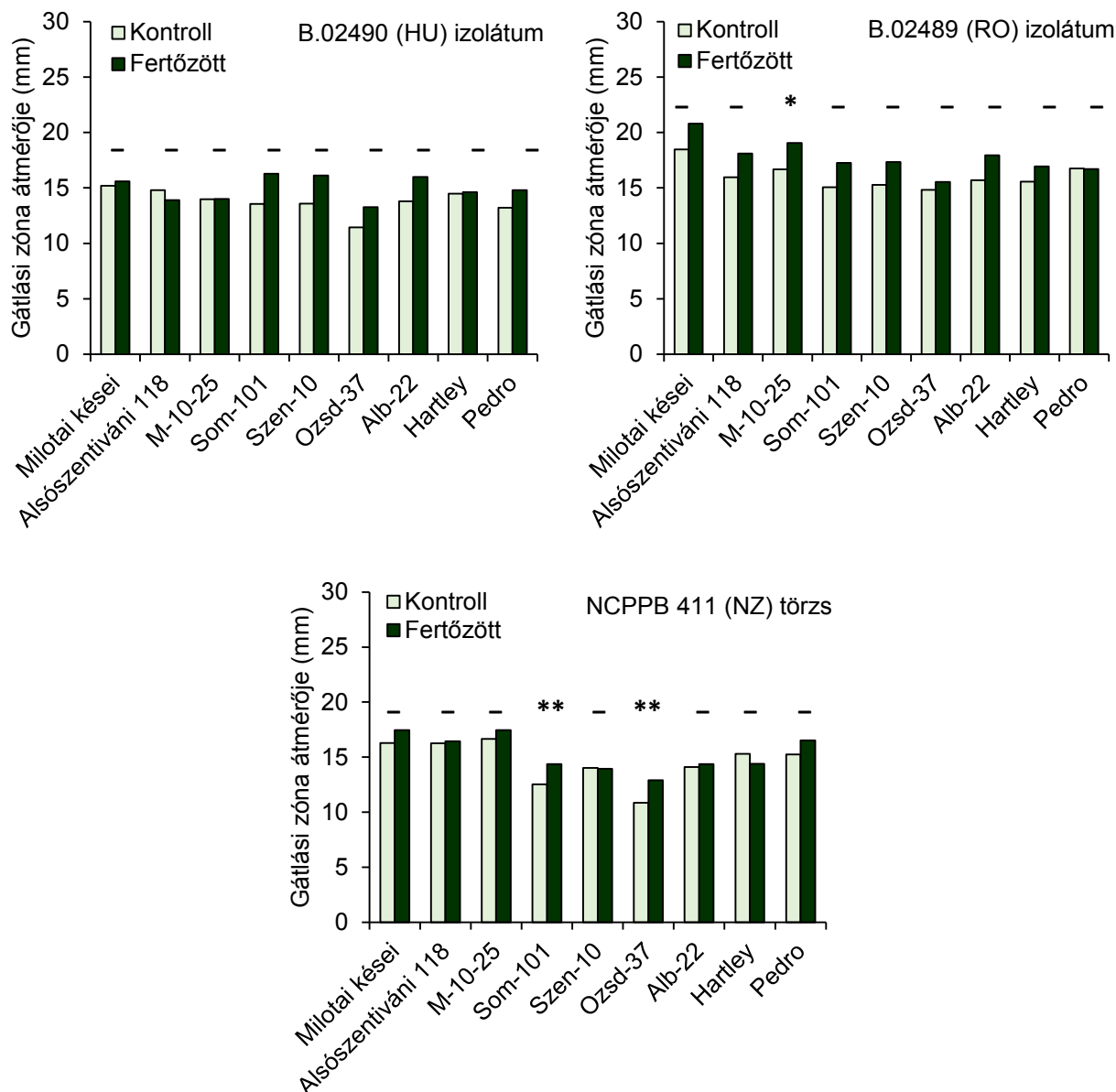
44. ábra. A fenolvegyületek antibakteriális hatása 1 és 4 órával az inokulációt követően

5.5.3. A ZÖLDBUROK-PRÉSNEDV ANTIBAKTERIÁLIS HATÁSA

A termésben levő összes polifenol együttes hatásának megismerése érdekében eltérő fogékonyságú fajták és szelekciók fertőzött és kontroll terméseinek zöldburkából származó présnedv antibakteriális hatását is vizsgáltuk agardiffúziós lyukteszt módszerrel (45. ábra). A kísérletben az általunk izolált és a mesterséges fertőzésekhez alkalmazott B.02490 (HU) és a B.02489 (RO) izolátumokat, illetve az NCPPB 411 (NZ) törzset használtuk.

A homogén baktériummezőt tartalmazó szilárd táptalajba lyukakat fűrtünk, s a lyukakba cseppentettük a burokból kinyert présnedvet. Az összes fenoltartalom antibakteriális hatását a kioltási zóna nagysága (átmérő) mutatta. E szerint a vizsgálatba vont fajták és szelekciók fertőzött és kontroll zöldburkaiból származó présnedv gátlási zóna átlagos kiterjedése 10,85 mm és 20,80 mm között váltoltozott. Ezen ismérvek alapján megállapítható, hogy az éretlen termések zöldburok-présnedve jelentős antibakteriális hatással bír. Azonban a vizsgálatba vont fajták többségénél a gátlási zóna kiterjedésében nem tapasztaltunk különbséget a fertőzött és a kontroll szövetből származó présnedvek hatása között.

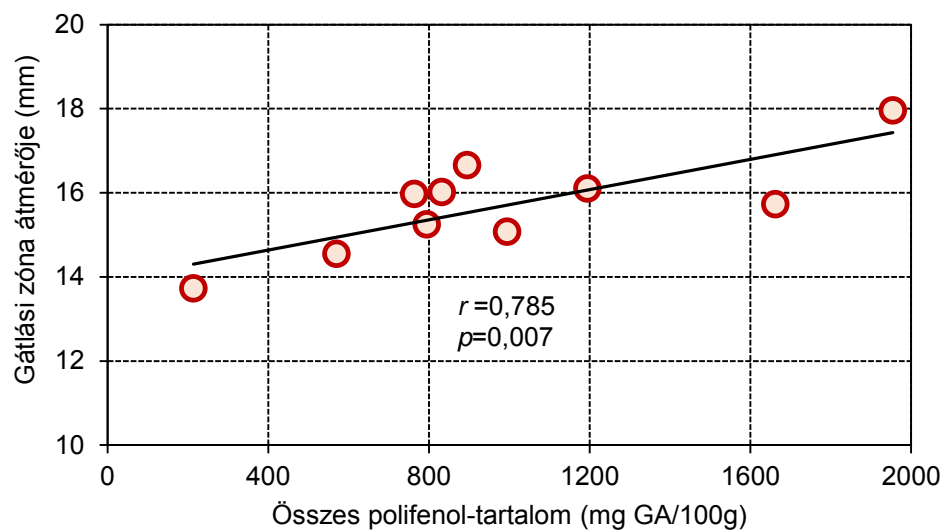
A B.02490 (HU) izolátum esetében - saját kontrolljához viszonyítva - egy fajta sem mutatott különbséget. A B.02489 (RO) izolátum tenyészetében az M-10-25 fertőzött zöldburokból származó présnedv kioltási zónája szignifikánsan nagyobb volt. Az NCPPB 411 (NZ) törzs esetében a Milotai kései, az M-10-25, a SOM-101, az OZSD-37 és a Pedro fertőzött terméseiből származó présnedv vizualizálhatóan kiterjedtebb gátlási zónát alakított ki a kontrollokhoz képest, azonban a különbség csak a SOM-101 és az OZSD-37 szelekciók esetében volt szignifikáns.



45. ábra. Éretlen diótermések présnedvének antibakteriális hatása a különböző *Xaj* törzsek és eltérő fogékonysággal rendelkező diófajták és szelekciók esetében. Az oszlopok tetején fajtán belül a fertőzött és nem fertőzött (kontroll) termékek zöldburkából származó présnedv átlagos kioltási zóna értékei közötti szignifikancia vizsgálat eredménye látható az alábbi módon:

** $p \leq 0,01$; * $p \leq 0,05$; –: nem szignifikáns

Összehasonlítva a vizsgálatba vont fajták és szelekciók összes polifenol-tartalmát az agardiffúziós lyukteszt eljárással kapott kioltási zónák kiterjedési mértékével, szignifikáns pozitív összefüggést találtunk ($r=0,785$; $p=0,007$). Azaz, azon fajták esetében, amelyek magasabb polifenol-tartalommal rendelkeztek, a présnedv kiterjedtebb gátlási zónát adott (46. ábra).



46. ábra. A zöldburok-présnedv összes polifenol-tartalmának antibakteriális hatása a *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* fejlődésére agardiffúziós lyukteszt módszer alkalmazásával

6. EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

A gyümölcsstermesztési kutatások egyik legfontosabb feladata egyre értékesebb fajták előállításának és azok számára kedvező termesztési területek helyes meghatározása. Fontos tehát a diótermesztés továbbfejlesztése érdekében olyan fajták kiemelése, amelyek megfelelő áruértékkel és termésbiztonsággal rendelkeznek, valamint az adott termesztőtáj pedoklimatikus viszonyaihoz leginkább megfelelnek.

A diót hosszú ideig magról szaporították, ezért nagy változatosság figyelhető meg a természetben, illetve háztáji kertekben fellelhető dióállományok esetében. Cociu (1999) szerint a spontán és félszponán dióállományokból számos nemesítési génforrás emelhető ki. Az elmúlt két évtizedben Európa szerte újabb jelentős szelekciós munka valósult meg a helyi diópopulációk átvizsgálásával. Bulgáriában, Németországban, Görögországban, Olaszországban, Lengyelországban, Portugáliában, Romániában, Szlovéniában, Spanyolországban és Ukrajnában számos tanulmány foglalkozott a fellelhető értékes szelekciók elemzésével (Germain *et al.*, 1997, 1999; Germain, 1992; Deaconu és Vasilescu, 1997; Pielko és Czynczyk, 1989; Revin, 1989; Solar, 1989; Fernández-López és Pereira, 1997, Loacker *et al.*, 2007, Thiesz *et al.*, 2009).

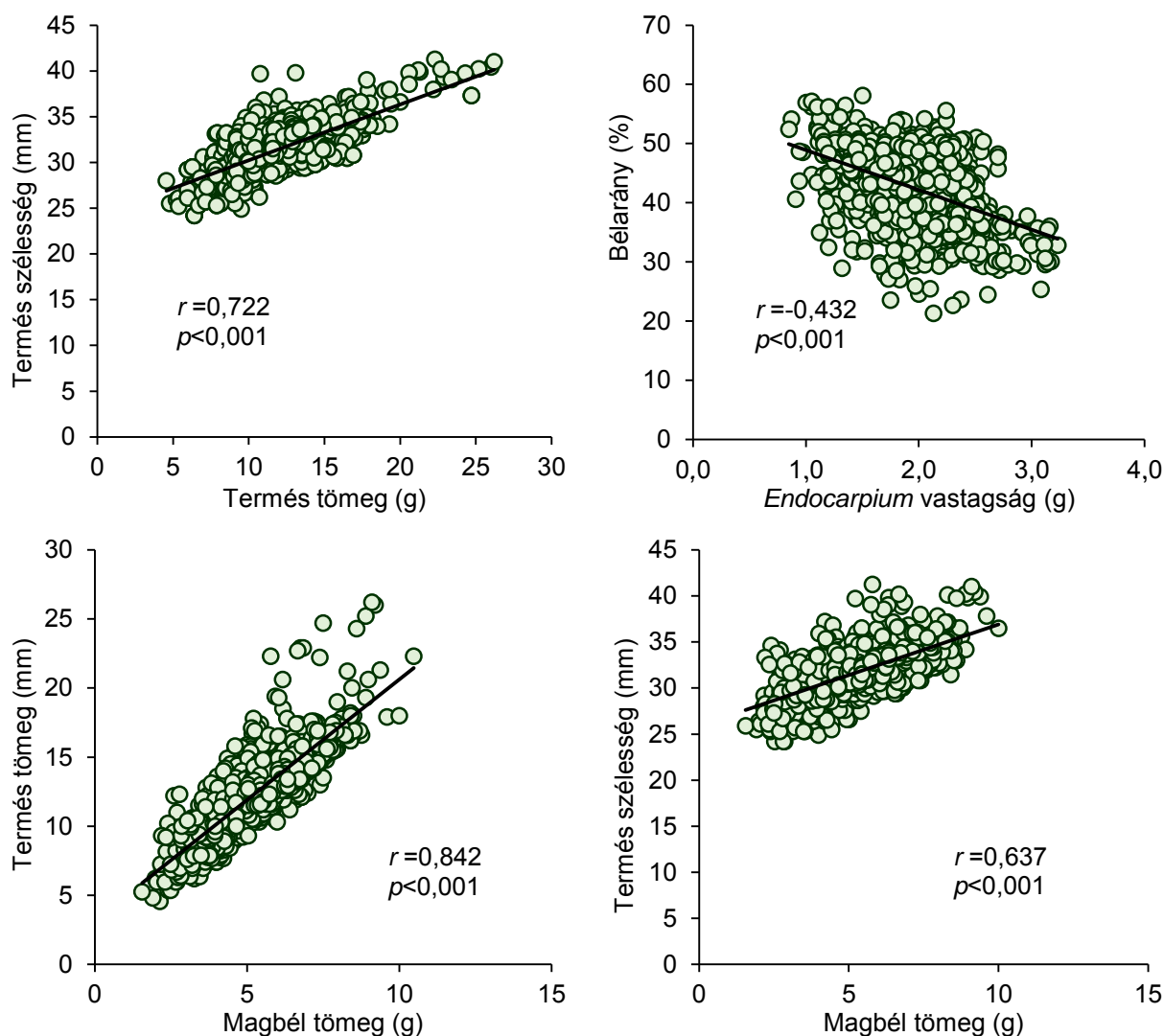
6.1. ERDÉLYBEN VIZSGÁLT DIÓÁLLOMÁNY TERMÉSMINŐSÉGÉNEK ÉRTÉKELÉSE

A dió gazdag helyi populációval rendelkezik Felső-Háromszéken, a Maros, a Nyárad és a Kis-Küküllő folyók közötti dombvidéken egyaránt. A terepi feltáró kutatások alapján, illetve a minták értékeléséből származó adatok alapján megállapítható, hogy a fent megnevezett földrajzi körzetekben kijelölt termőhelyeken nagyszámban fordul elő kutatási anyag, amely több tulajdonság vonatkozásában nagy változatosságot mutat. Ez a nagyfokú variabilitás tette lehetővé, hogy a szelekciós munkánk során több értékes egyedet választhattunk ki. Ezek közül hat genotípus (nemesítési jelzésük: SZEN-10, FFA-11, ALB-22, OZSD-37, SOM-101, SOM-120) bizonyult legértékesebbnek az eddigi részletes értékelések alapján. A vizsgálatok, melyekben magam is aktív részt vállaltam, Dr. Thiesz Rezső vezetésével jelenleg is folyamatban vannak. Az értékelést nem csak az eredeti termesztőtájon, hanem más diótermesztő vidékeken is célunk elvégezni.

A teljes állományból begyűjtött termések fizikai tulajdonságai közül néhány általános összefüggésen (8. melléklet) túl bebizonyosodott, hogy a terméshéj vastagsága és a bélarány között egy közepes erősségű negatív irányú szignifikáns összefüggés ($r=-0,432$; $p<0,001$) található. Ez a kapcsolat arról tájékoztat, hogy az olyan genotípust, melynek terméshéja 2 mm feletti nagy eséllyel alacsonyabb bélarány jellemzi. Továbbá szoros pozitív kapcsolatot állapítottunk meg a termés tömege és a magbél tömege között ($r=0,842$; $p<0,001$), valamint a termés szélessége és a magbél

tömege esetében ($r=0,637$; $p<0,001$) (47. ábra). Ezen eredmény összhangban Rink (1997) eredményével, arra utal, hogy a nagyobb termés szélességgel rendelkező típusok jó eséllyel nagyobb teltséggel rendelkeznek.

A dió termésméretére a termesztéstechnológiai eljárásokon túlmenően a fajta genetikai hátterének van a legnagyobb hatása. Ez azt jelenti, hogy a genetikailag nagy termésű, legalább 32 mm átlagos termésátmérővel rendelkező egyedekkel érdemes további vizsgálatokat végezni, mert ennél a gyümölcsfajnál a termésméretére az ültetvény jó kondícióján és termőegyensúlyban tartásán kívül szinte alig van olyan termesztéstechnológiai eljárással, amivel közvetlen hatást tudunk kifejteni.

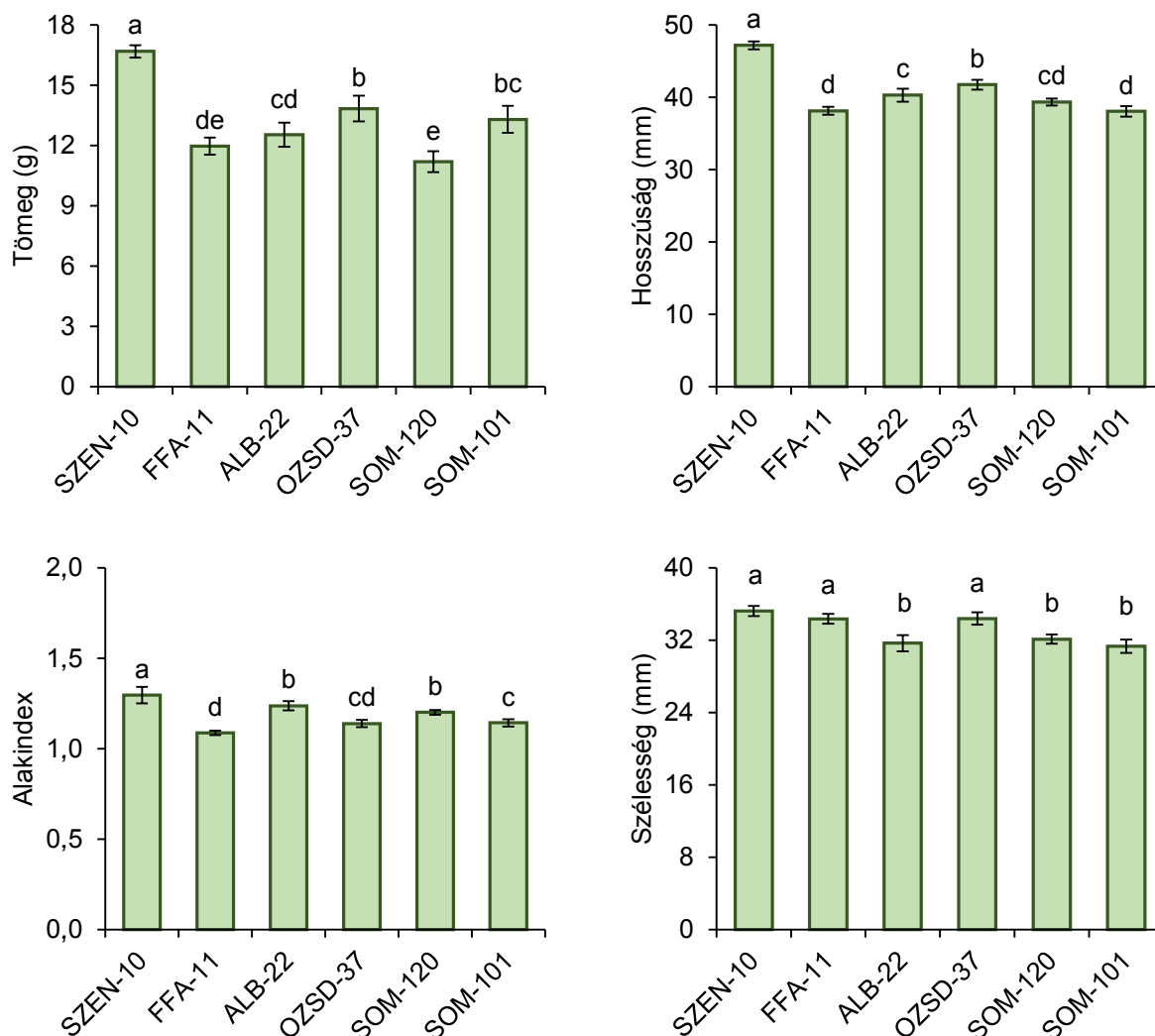


47. ábra. A héjas dió egyes fizikai tulajdonságainak hatása a bértartalom alakulására

Fontos méretmeghatározó tulajdonság a termés tömege, amely a különböző diótípusok esetében 5–19 g közötti lehet. A nagyobb tömeggel rendelkező dió általában értékesebb. A tömegnövekedést a héjvastagság és a bértartalom egyenlő arányban adja, azonban a szüret utáni

kezelés során az arány a bél javára változik (mert a terméshéj párologtatja el mind a saját, mind a bél fölös víztartalmát), s csak teljes kiszáradáskor áll helyre a helyes, fajtára jellemző arány (Szentiványi, 1976).

A dió áruértéke szempontjából figyelembe kell venni, hogy az Erdélyben kiválasztott típusok termésmérete 11,20 és 16,69 g között változik. Bujdosó (2006) szerint kedvező, ha a szárított héjastermés tömege 12-13 g feletti. A Magyarországon nemesített államilag minősített diófajták termésmérete keskenyebb intervallumba sorolható (10,8–13,7 g). Szentiványi (2006b) adatai alapján viszonylag kisebb termésméret jellemzi a következő fajtákat: ‘Milotai kései’, ‘Milotai intenzív’, ‘Bonifác’ és ‘Tiszacsécsi 83’. Termésméretük nem éri el a 12 grammot. Az ‘Alsószentiváni 117’, ‘Milotai 10’, ‘Alsószentiváni kései’ és a ‘Milotai bőtermő’ termésmérete 12 és 14 g közötti. Az erdélyi szelekciókat a SOM-120 kivételével 12 g fölötti termésméret jellemzi. Kiemelkedően magas e tekintetben a SZEN-10, átlagos termésmérete 16,70 g (48. ábra).



48. ábra. A legértékesebb szelekciók fontosabb fizikai tulajdonságainak átlagértékei (n=80) és azok 95%-os konfidencia intervalluma

A kiváló héjas dió 32 mm-nél nagyobb egyenletes átmérővel kell rendelkezzen (G. Tóth, 2004), mivel az I. osztályú méretkategória alsó határát ez az érték jelenti (Bujdosó, 2006). Az Erdélyben kiemelt diótípusok eleget tesznek ennek a feltételnek. A SZEN-10, FFA-11, OZSD-37 szelekciók átlagos átmérője szignifikánsan ($p < 0,05$) nagyobb a többi típushoz viszonyítva. E tekintetben a NAIK Gyümölcstermesztési Kutatóintézet Érdi Kutató Állomásán Dr. Szentiványi Péter által nemesített diófajták is kiválónak mondhatók. A sokéves adatok alapján átmérőjük stabilan 32-34 mm között változik (Bujdosó *et al.*, 2014).

A jelenlegi piaci viszonyok követelményei szerint elsősorban a nemesítő, majd a termesztő az I. osztályú vagy azt meghaladó méretkategória elérését tűzi ki célul. A héjas dió értékesítésénél felvásárlási felárral ösztönzik a termesztőket a 34-36 mm prémium+, illetve a 36 mm feletti prémium++ minőség elérésére (Bujdosó, 2006). Ezért szükséges a nemesítés során olyan szelekciók kiválasztása vagy az államilag elismert fajták közül azok termesztése, amelyek genetikailag legalább 32 mm-es termésátmérővel rendelkeznek.

A termés alakja a legfontosabb és legjellegzetesebb fajtabélyegek közé tartozik, amely döntő tényező lehet a fajták és típusok megkülönböztetésénél is. Továbbá az áruérték szempontjából igen fontos a termés mérete és alakja (Van Eck *et al.*, 1998; Sadrnia *et al.*, 2007; Wycislo *et al.*, 2008; Keramat Jahromi *et al.*, 2008; Kiliçkan és Güner, 2008).

Erdélyben begyűjtött termésminták morfológiai adatai alapján a vizsgált diótípusok termése nagyon változatosnak bizonyult. Szentiványi szerint (1976) a termés külalakja, nagysága és magbél tartalma az egyes típusok sajátos jellegét és ismertető bélyegét képezik. Gazdasági szempontok alapján a gömbölyű vagy az azt megközelítő alak a legkedvezőbb, mert a szállítása, a manipulációja és a feldolgozása is sokkal könnyebb, mint az elliptikus alakú termésé, valamint tetszetősebb is. Emellett a gömbölyű dió alakja következtében még azonos héjkeménység esetében is szilárdabb hosszúkas társainál. A fogyasztók a hosszúkas diót helyezik előtérbe, mert a tényleges méreténél nagyobbnak látszik, és emiatt nagyobb bétartalmat feltételeznek, mint a gömbölyűnél.

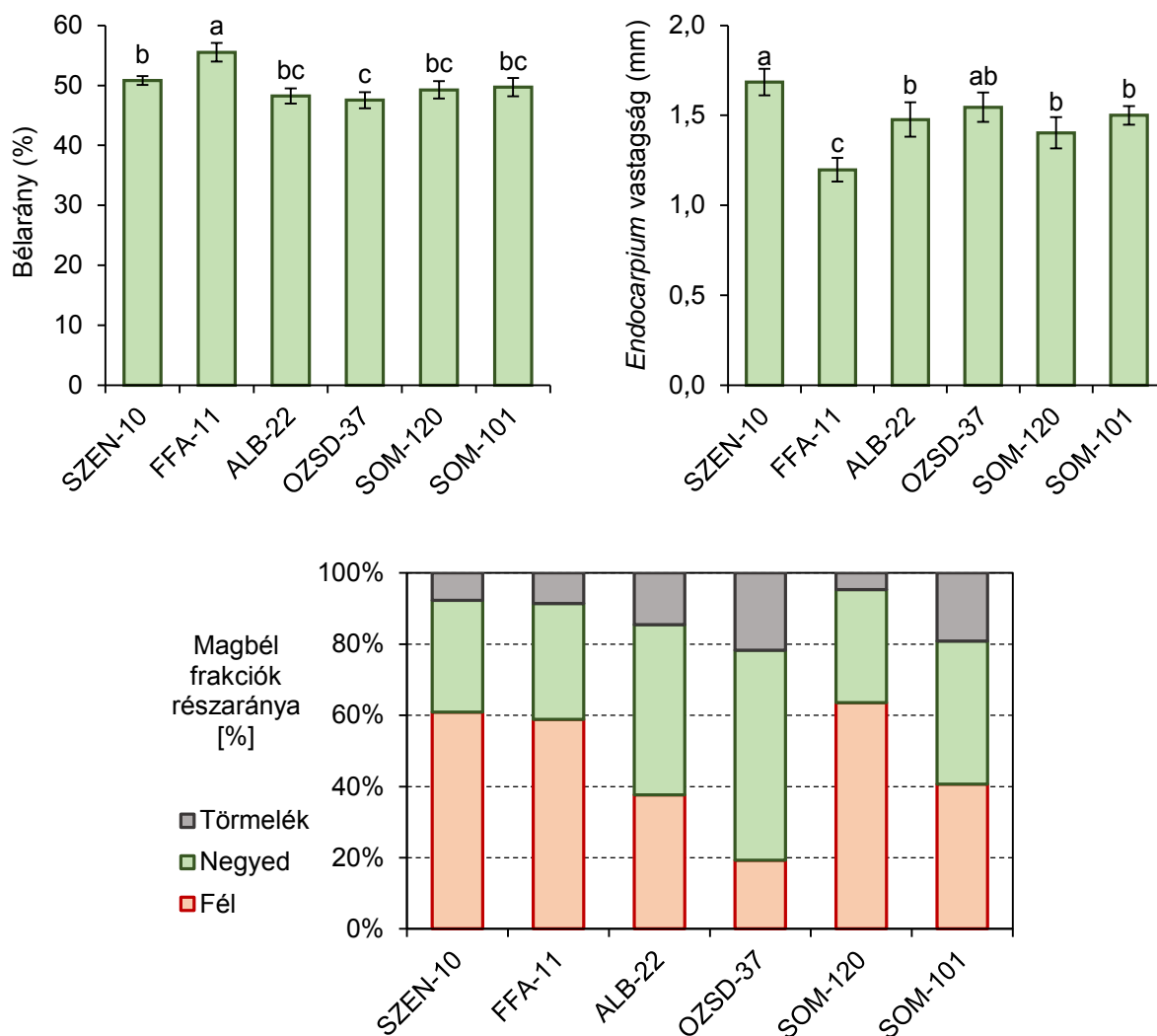
Magyarország jelenlegi fajtaválasztékát képező fajták esetében az alakindex intervalluma 1 és 1,15 közötti értékeket vesz fel. Ez alapján kijelenthető, hogy határozottan gömbölyű termésalakkal rendelkeznek. A szelekciók alakváltozatosságát illetően a gömbölyűded termésalak az uralkodó. Kivételt képez a SZEN-10, melynek termése enyhén megnyúlt.

A vizsgált populációkban a termésalak kiemelkedően nagy szórást mutatott. E szerint négy változatot állapítottunk meg: kerekded (*forma rotunda*), elliptikus (*forma elliptica*), tojásdad (*forma ovata*) és visszás tojásdad (*forma obovata*). A diótermések alakja és terméshéjának vastagsága között összefüggést mutattunk ki. A kerekded termésalak esetében a legvékonyabb az

endocarpium, e tekintetben utána a tojásdad és a visszás tojásdad termésalakokkal rendelkező termések következnek. Legvastagabb *endocarpium* az ovális termésalakokra jellemző. Megállapítottuk továbbá, hogy a termés alakja befolyásolja a bélszázalékot, valamint Bujdosó (2006) szerint a törhetőségre is hatással van.

A héjas diónak, mint árunak egyik legfontosabb tulajdonsága a béltartalma, amit a bél tömegének az egész dió tömegéhez viszonyított százalékában (bélszázalékban) fejezünk ki. Szentiványi (1976) szerint a jó minőségű fajták héjas termése legalább 44% béltartalmú, ugyanakkor Bujdosó a diófajták áruérték vizsgálata kapcsán 46-50% közötti bélarányt tart optimálisnak. Noha a héjas diónak, mint árunak a legfontosabb értékmérő tulajdonsága a bélszázalék, egy diófajta termesztésre való kiválasztásakor mégis célszerű ezt a szempontot úgy módosítani, hogy termelékenyebb az a fajta, amelyik területegységre számítva magasabb bélhozamú. Ez az értékelés a bélszázalékon túl a fajta termőképességét és termésbiztonságát is figyelembe veszi (Szentiványi, 1976). Magyarországon a diófajták szortimentjét képező fajták bélaránya a sok éves adatrögzítés alapján 40,4 g és 52,4 g között változik. Ezen intervallumban az 50%-ot elérő vagy afölötti magbélarány értékkel a 'Milotai intenzív' (52%), az 'Alsószentiváni 117' (51,7%) és a 'Tiszacsécsi 83' (52,4%) rendelkezik (Bujdosó *et al.*, 2014). Hasonlóan az Erdélyben szelektált genotípusok közül az FFA-11 és a SZEN-10 bélaránya 50% fölötti (49. ábra). Legalacsonyabb bélszázalékot (47,53%) az OZSD-37 szelekció adta, azonban átlagértéke szignifikánsan nem különbözik a nála 1-2%-kal magasabb ALB-22, SOM-120 és SOM-101 típusokétól.

A terméshéj vastagsága, keménysége a bélarány és a törhetőség szempontjából is jelentős (Bujdosó, 2006). A vastagság általában 0,4-2,4 mm közé tehető (Szentiványi, 1976). Szilárdságát tekintve lehet puha, lágy, félkemény, kemény vagy kőkemény. Kíváncos a vékony, de kemény héj, amely ütésre roppanva reped, és így a magbelet nem sérti (Szentiványi, 2006a). Ezen szempontoknak a kiválasztott hat erdélyi szelekció eleget tesz. Megegyezően a Magyarországon nemesített fajtákkal, héjvastagságuk 1,2 mm és 1,7 mm között változik. Ennek alapján lágy héja van az FFA-11, SOM-120, ALB-22, SOM-101 genotípusoknak. A SZEN-10 és az OZSD-37 terméshéja félkemény. A törhetőségi mutatók alapján igen eltérően viselkedtek a Felső-Háromszéki és az Alsó-Nyárádmenti állományból szelektált genotípusok. A magyar nemesítésű fajtákhoz viszonyítva, amelyek esetében a törés során a féldiók aránya 50 és 80% közötti (Bujdosó, 2006), a SZEN-10, FFA-11 és SOM-120 jónak bizonyult, a féldiók aránya 60% körüli. Az ALB-22 és a SOM-101 esetében viszont 20%-kal alacsonyabb ezek aránya. Az OZSD-37 genotípus esetében a negyed magbelek aránya van túlsúlyban.



49. ábra. A legértékesebb szelekciók bélaránya és törhetőségi mutatói

6.2. AZ IZOLÁTUMOK BIOKÉMIAI, FIZIOLÓGIAI REAKCIÓINAK ÉRTÉKELÉSE

Jelen kutatás eredménye széleskörű információt szolgáltat a *Xaj* baktérium szénhidrát hasznosításáról. Eredményeink alapján meghatároztuk a kórokozó által különböző mértékben hasznosított szénhidrátok csoportját, mint: gyorsan és teljes mértékben-, lassan és teljesen-, gyengén és kismértékben hasznosított-, nem hasznosított szénhidrátok. Feltételezzük, hogy a gyorsan és teljes mértékben-, illetve a lassan és teljesen hasznosított szénhidrátok jelentős mértékben befolyásolják a fertőződés mértékét.

A szénhidrátok egyes fajtái között nem volt különbség a B.02490 (HU) és B.02489 (RO) izolátumok vonatkozásában, csak a lebontás gyorsaságában. A NCPPB 411 (NZ) törzs kevesebb szénhidrátot hasznosított (lásd 22, 31, 35, 37 szénhidrátok), mint a Kárpát-medencéből származó izolátumok.

Megállapítható, hogy az Erdélyből B.02489 (RO) és a Magyarországról B.02490 (HU) származó két törzs megegyező szénhidrát hasznosításának köszönhetően a két térségből származó fajták kölcsönösen termesztethetők. Azonban az Új-Zélandról származó törzs NCPPB 411 (NZ) eltérő szénhidrát hasznosítása révén arra a következtetésre ad okot, hogy óvatosnak kell lenni a távoli fajták honosításával, illetve honosítás előtt vizsgálni kell a helyi rasszokkal szembeni ellenállóképességet is.

6.3. A *Xaj* BAKTÉRIUMRA VALÓ FOGÉKONYSÁGGAL KAPCSOLATOS EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA ÉS ÉRTÉKELÉSE

A vizsgálatba vont fajtáknak először lett felmérve a *Xaj* baktériummal szembeni viselkedésük *in vitro* kísérletben, inokulációs technikával, ezért csak a kontroll fajták adatai hasonlíthatók korábbi vizsgálatok eredményeihez. Számos szakirodalom beszámol a ‘Hartley’ és a ‘Pedro’ baktériumfoltosság betegségekre való fogékonyságával kapcsolatos vizsgálatokról. Özaktan *et al.* (2007a, 2008b) mesterséges fertőzéssel számos fajta fogékonyságát értékelve a ‘Pedro’ esetében 2007-es adatok alapján közepes mértékű fogékonyságot állapított meg (fertőzöttség intenzitása=14.1%), míg a 2008-as eredmény szerint mérsékelt fogékonynak bizonyult (fertőzöttség intenzitása=55%). Jelen vizsgálatok során 2011-ben a ‘Pedro’ mérsékelt rezisztenciát mutatott, míg 2012-ben mérsékelt fogékonyságot állapítottunk meg.

Tsiantos *et al.* (2008) korábbi eredményei alapján tájékozódhatunk a ‘Hartley’, valamint a ‘Milotai 10’ fajták fogékonyságáról. Ezek szerint a ‘Hartley’ esetében - 2007-es és 2008-as összevont adatok alapján - az IVS érték 25, s a Thibault *et al.*, (1987) által kidolgozott fogékonysági csoportok alapján mérsékelt fogékonynak bizonyult. A Milotai 10 fajtát fogékonynak találták (IVS=80, D fogékonysági csoport) (Tsiantos *et al.*, 2007). Solar *et al.* (2008, 2009) ugyancsak mérsékelt fogékonyságról számol be a ‘Hartley’ esetében. Eredményeink alapján 2011-ben a ‘Hartley’ fogékony, 2012-ben mérsékelt fogékony volt.

Az évenkénti mérések adatai alapján megállapítható, hogy a vizsgált fajták többsége mérsékelt fogékony, illetve fogékony. A Magyarországon nemesített fajták közül alacsony mértékű fogékonyságot a ‘Milotai kései’, az ‘Alsószentiváni 118’, az M-10-25 és a ‘Milotai bőtermő’ fajták mutattak. Az erdélyi szelekciók közül figyelemre méltó a SZEN-10 és a SOM-101 viselkedése, melyek esetében a különböző évek eredményei alapján mérsékelt rezisztenciát és mérsékelt fogékonyságot állapítottunk meg.

A leveleken végzett korábbi szabadföldi xantomonasz felmérések azt bizonyítják, hogy a kiemelt fajták jó ellenálló képességgel rendelkeznek. Thiesz *et al.* (2009) az Erdélyből származó típusok jelentős részét alacsony mértékű xantomonasz fogékonysággal jellemezte. Szani (2009)

hét éves adatai szerint a Magyarországon nemesített fajták alacsony, illetve közepes fertőzöttséget mutattak. Azonban az általunk végzett mesterséges fertőzések alapján számos fajta esetében bebizonyosodott a xantomonasz fogékonyság. Ezért önmagában a levél alapján történő értékelést nem tartjuk megbízhatónak. A vizsgálatok során alkalmazott mesterséges inokulációt Rovira *et al.* (2007) is fontosnak tartja. Úgy vélekedik, nem elegendő a fajták fogékonyságának jellemzését kizárólag a szabadföldi felvételezésekre alapozni.

Következtetésként megállapítható, hogy a ‘Pedro’ bizonyos utódokba örököltette a xantomonasszal szembeni ellenálló-képességét. Ezek javasolhatók további nemesítésben génforrásként és termesztésre a Kárpát-medence környezeti viszonyai közé. E vizsgálatok eredményei adatokat szolgáltathatnak a *Xaj* baktérium által kiváltható károk mérsékléséhez azáltal, hogy a fajták fogékonyságáról megfelelő eredményekkel rendelkezünk.

6.4. A DIÓ VÉDELMI MECHANIZMUSÁBAN RÉSZT VEVŐ FENOLVEGYÜLETEK SZEREPE

Napjainkban számos kutató műhely intenzív kutatási munkát folytat a közönséges dió védelmi mechanizmusának feltárása érdekében. Az eddigi eredmények szerint a dió védekezési folyamatában jelentős szerepet tulajdonítanak a különböző fenolvegyületeknek a bakteriális és gombás fertőzések kivédésében. Frutos és López (2012) szerint a xantomonasz által kiváltott betegséggel szembeni rezisztencia kialakításában nagy szerepe van a fenolvegyületeknek, továbbá a baktérium és a fenol-összetevők kölcsönhatása között összefüggés mutatható ki.

Vizsgálataink eredményei alapján kijelenthetjük, hogy eltérően alakult a vizsgált diófajtákban a különböző fenolvegyületek természetes aktivitása. A termékenyülést követően 45 nappal (Gf+45) (13. melléklet) megszedett éretlen termések zöldburka legmagasabb mennyiségben és arányban flavonolok csoportjából a kvercetineket tartalmazta. A vizsgálatba vont 14 fenolvegyület közül a kvercetin 20,59%-ban volt jelen a vizsgált fajtákban, ami 136,29 mg/100 g FW átlagos koncentrációt jelent nyers zöldburok tömegre vonatkoztatva. Ugyancsak meghatározó mennyiségként azonosítottuk a kvercetin 3-glükozidot, mely a három vizsgált fajta és szelekció átlagos értékei szerint 14,70%-ot tesz ki a vizsgált fenolvegyületek összességéhez viszonyítva. Ezen eredményünk összhangban van Pereira *et al.* (2008) és Amaral *et al.* (2004, 2008) adataival. A juglon a kvercetint követően második legnagyobb mennyiségben jelen lévő fenol-komponens, az éretlen termések zöldburka 18,65%-ban tartalmazta. Matias *et al.* (2007, 2009) vizsgálataik során a juglon mellett a galluszsav, (+)-katekin, (-)-epikatekin, szinapinsav, p-kumársav, ferulasav, ellágsav, klorogénsav és vanillinsav koncentrációját mérve, a dió zöld terméseiben a galluszsav és a juglon fordult elő legnagyobb mennyiségben a többi fenolhoz viszonyítva. A fahéjsav a negyedik legmagasabb arányban (13,00%) jelenlévő fenolvegyület,

melyet a (+)-katekin (11,25%) követ. További csökkenő sorrendben a rutin (8,12%), klorogénsav (4,99%), kvercitrin (3,97%), pirokatechin (1,57%), galluszsav (1,07%), (-)-epikatekin (0,85%), sziringasav (0,56%) vanillinsav (0,50%), valamint legalacsonyabb mennyiségben a protokatekin (0,23%) található meg a zöldburokban.

Eredményeinkhez hasonlóan Solar *et al.* (2006b) és Matias *et al.* (2007, 2009) szerint a diófajták különbséget mutatnak a különböző fenolvegyületek alapján. További eltérést állapítottak meg a földrajzi elhelyezkedés és a klimatikus viszonyok szerint a fenolvegyületek felhalmozódását tekintve (Amaral *et al.*, 2008).

A fertőzés hatására a fajták fogékonyágának mértéke szerint eltérés mutatkozott a különböző fenolvegyületek aktivitásában. Elemezve összességében a vizsgálatba vont 14 fenolvegyület aktivitását megállapíthatjuk, hogy a 'Pedro' fertőzött terméseiben 38,93%-kal magasabb volt a szintézis, mint a kontroll (desztillált vízzel kezelt) termésekben. Ugyanakkor a természetes módon fellelhető fenolösszetevők koncentrációját 23,06%-kal meghaladta.

A nagyon fogékony ALB-22 szelekció fertőzött terméseiben 2,45%-kal alacsonyabb volt a fenolvegyületek aktivitása, mint a kontroll termésekben. A természetes szintézishez viszonyítva a fertőzött termésekben 2,29%-kal kisebb volt a vizsgált fenolok szintézise.

A vizsgálatba vont 14 fenolösszetevő közül a 'Pedro' fertőzött terméseiben 11 fenolvegyület esetében a fertőzés hatására magasabb aktivitást állapíthatunk meg összehasonlítva mind a kontroll-, mind a természetes szintézissel. Legszámottevőbb különbséget a fertőzött és fertőzetlen kezelés között a vanillinsav, protokatekin és pirokatekin fenolvegyületek adták. A két kezelés közötti különbség aránya meghaladja az 50%-ot (23. táblázat). Azonban a fertőzött és a természetes aktivitás közötti különbségeket elemezve csak a vanillinsav rendelkezik a fent megnevezett különbségaránnyal. A 'Milotai kései' és a 'Hartley' fertőzött terméseiben a 14 fenol közül mindkét fajta esetében hat-hat fenolvegyület adott pozitív eltérést a kontroll és a természetes szint aktivitásához viszonyítva. Azonban a hat fenol közül a két fajta esetében csak a fahéjsav és a klorogénsav tekintetében volt azonosság. A nagyon fogékony ALB-22 szelekció adja a legcsekélyebb számú fenolvegyületet, amelyek esetében magasabb a fertőzött termések szintézise a kontroll és a természetes aktivitáshoz viszonyítva.

Solar *et al.* (2007) szerint a fenolvegyület magas koncentrációja nem mindig párosul antibakteriális hatással. Eredményeink alapján a flavanolok csoportja (pirokatekin, (+)-katekin, (-)-epikatekin) a fertőzés hatására a szintézis jelentős emelkedését mutatta, a természetes és a kontroll termések aktivitásához viszonyítva egyaránt. Azonban a fenolvegyületek közvetlen antibakteriális hatásának *in vitro* vizsgálati eredményei alapján (5.5.1. és 5.5.2. fejezetek) antibakteriális hatásuk nem igazolódott.

23. táblázat. A vizsgálatba vont fenolvegyületek szintézis különbségének aránya (%) a fertőzött termésekben a kontroll és a természetes mennyiséggel összehasonlítva (A táblázatban kiemeltük azon fenolvegyületek értékeit, amelyek a fertőzés hatására mind a természetes, mind a kontroll viszonyításában aktivitásuk emelkedett.)

Sor-szám	Fenolvegyület	‘Milotai kései’ (mR)		ALB-22 (hS)		‘Hartley’ (mS)		‘Pedro’ (mR)	
		Fenolvegyületek különbség aránya (%)							
		<i>F - K</i>	<i>F - 0 óra</i>	<i>F - K</i>	<i>F - 0 óra</i>	<i>F - K</i>	<i>F - 0 óra</i>	<i>F - K</i>	<i>F - 0 óra</i>
1.	Juglon	-6,21	3,03	-6,22	-6,21	20,46	6,98	25,20	37,30
2.	Vanillinsav	0,58	11,12	22,36	13,36	-40,84	33,44	62,73	65,95
3.	Galluszsav	-55,85	58,67	-6,54	-37,13	-55,68	12,82	9,09	33,84
4.	Sziringasav	-88,18	20,80	41,86	18,28	50,35	58,12	43,74	-37,58
5.	Protokatekin	34,67	28,10	-21,76	22,55	22,39	-69,40	70,41	46,82
6.	Kvercetin 3-glükozid	-23,65	19,44	-4,34	26,22	28,64	11,68	21,04	46,48
7.	Kvercitrin	-14,61	2,92	-32,29	25,60	0,87	-0,86	10,77	28,35
8.	Kvercetin	3,20	10,81	-11,33	12,90	45,59	-14,63	24,58	3,36
9.	Rutin	-84,92	-38,05	17,42	76,11	-157,38	-125,06	12,88	-16,16
10.	Pirokatekin	-47,92	30,67	-79,69	-24,96	53,40	14,12	77,73	37,48
11.	(+)-Katekin	48,75	36,01	6,43	-36,27	30,84	22,40	57,76	23,24
12.	(-)-Epikatekin	-22,88	-2,93	23,06	-47,42	44,82	-33,01	48,51	44,44
13.	Fahéjsav	4,42	1,56	33,29	-100,52	61,37	61,32	47,14	-31,41
14.	Klorogénsav	5,86	10,83	9,04	-19,65	49,00	33,01	43,01	62,16
Átlag		-17,22	15,07	-2,45	-2,29	8,38	1,63	38,93	23,06

Megjegyzés: *F* – fertőzött éretlen diótermések fenolvegyület tartalma

K – kontroll éretlen diótermések fenolvegyület tartalma

0 óra – az éretlen diótermések természetes fenolvegyület mennyisége

Matias *et al.* (2007, 2009) szerint negatív irányú összefüggés ($r=0,490$; $p=0,07$) található a juglon mennyisége és a termések fertőzöttségi mértéke között. Vizsgálataik során a ‘Pedro’ termések fertőzöttsége 40%-os volt, míg a juglontartalmuk megközelítette a 700 mg/100 g nyers tömegre számolt értéket. Ezzel szemben a ‘Hartley’ termésein megállapított 70%-os baktériumos foltosság aránya csak 300 mg/100 g juglonkoncentrációt ért el. A ‘Pedro’ fajtával megegyező fertőzöttséget mutató ‘Franquette’ juglon tartalma viszont alacsonynak (180 mg/100 g FW) bizonyult. Solar *et al.* (2007) kutatásai ugyancsak megerősítik a juglon antibakteriális hatását.

Eredményeink alapján a juglon és a kvercetin 3-glukozid természetes mennyiségéhez képest nem figyelhető meg ahhoz társuló aktivitás az ALB-22 fertőzött terméseiben. A ‘Pedro’ esetében a juglon 30,67%-al, míg a kvercetin 3-glukozid 24,57%-kal mutatott nagyobb mértékű szintézist. Tehát megállapíthatjuk, hogy a fent megnevezett két fenolvegyület fajtától függően fejti ki antibakteriális hatását a dió baktériumos foltosság kórokozójával szemben.

Solar *et al.* (2009) azt találták, hogy a fertőzés hatására emelkedett a (+)-katekin, a klorogénsav és a rutin szintézise. Eredményeink alapján hasonló megállapításra jutottunk, azzal a megjegyzéssel, hogy ezen fenolvegyületek közül a (+)-katekin és a klorogénsav fokozott aktivitása a kevésbé fogékony fajták esetében követhető nyomon. Míg a rutin szintézise csak a nagyon fogékony ALB-22 szelekció fertőzött terméseiben emelkedett. A (+)-katekin és a rutinnal ellentétben a klorogénsav antibakteriális hatása *in vitro* vizsgálati eredményeink alapján (5.5.1. és 5.5.2. fejezetek) bizonyítást nyert. A vizsgálatba vont 14 fenolvegyület közül a klorogénsavhoz hasonlóan jelentős antibakteriális hatást tanúsított további hat fenolvegyület, melyek a következők: vanillinsav, sziringasav, protokatekin, galluszsav, fahéjsav és juglon.

Tehát kutatómunkánk eredményei alapján megállapíthatjuk, hogy bizonyos fenolvegyületek fontos szerepet játszanak a diófajták védelmi mechanizmusában.

A kórokozó támadására válaszként az összes polifenol-tartalom és összetétele változhat, így aktív szerepet játszik a kórokozókkal szembeni indukált rezisztenciában (Treutter és Feucht, 1990; Treutter, 2005). Esetünkben agar diffúziós lyukteszt módszerrel vizsgálva a különböző fogékonyságú fajták zöldburok-présnedvének antibakteriális hatását, arra a következtetésre jutottunk, hogy a magasabb polifenol-tartalmú fajták esetében a présnedv kiterjedtebb gátlási zónát adott. Ez alapján azt a kijelentést tehetjük, hogy a magasabb polifenol-tartalommal rendelkező diófajták termése ellenállóbb a dió baktériumos foltosság kórokozójával szemben.

7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

A PhD kutatások új tudományos eredményeit az alábbiakban foglalom össze.

1. Közép- és Kelet-Erdélyben elsőként végzett tájszelekciós munka keretében a különböző termesztőtíjakon fellelhető magonc dióállományok esetében a termésmorfológiai jellemzők és a baktériumos betegségekre való fogékonyság nagyfokú variabilitásának igazolása.
2. Termésmorfológiai jellemzők és a *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* baktériummal szembeni ellenállóság alapján két perspektivikus genotípus (SZEN-10, SOM-101) kiemelése és leszáporítása további fajtaösszehasonlító vizsgálatok céljából.
3. Diófajták *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* baktériummal szembeni ellenállóságának elbírálásához az *in vitro* inokulációs technika Magyarországon elsőként történő bevezetése. A vizsgált magyar diófajták és erdélyi szelekciók ellenállóság alapján történő csoportosítása.
4. A zöldburok összes polifenol-tartalma és a baktériumos foltossággal szembeni ellenállóképesség közötti pozitív korreláció bizonyítása.
5. A *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* baktérium három eltérő származású izolátumának biokémiai azonosítása a baktérium által különböző mértékben hasznosított szénhidrátok meghatározása alapján. Javaslat a törzsek rezisztencianemesítési munkában való szerepére.
6. A dió esetében releváns fenolvegyületek antibakteriális hatásának feltárásához alkalmazható komplex vizsgálati módszer fejlesztése.
7. Annak megerősítése, hogy a *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* betegség élettani folyamata a fenolvegyületek elemzésével nyomon követhető. A diófajták védekezési mechanizmusaiban szerepet játszó fenolvegyületek azonosítása.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Kutatásunk folyamán Erdély dióállományát térképeztük fel Felső-Háromszék vidékén, Maros, Nyárad és a Kis-Küküllő folyók közötti dombvidéken. A feltáró vizsgálatok alkalmával összesen 57 település 648 termőfájáról gyűjtöttünk -a vegetatív tulajdonságok felvételezésén túl- főként termésmorfológiai és a dió baktériumos levél- és termésfoltosság betegségével kapcsolatos, a termőfák fogékonyságára vonatkozó adatokat.

A terepi munkák alkalmával, illetve a mérésekből származó adatok alapján azt a következtetést tudjuk megerősíteni, hogy a vizsgálatba vont termőhelyek gazdag diópopulációval rendelkeznek. Az állomány teljes egészében magoncként szaporított, ami nagy genetikai változatosságot eredményez a különböző mennyiségi és minőségi tulajdonságokra vonatkozóan.

A dió baktériumos foltosságával szembeni viselkedést kutatva szabadföldi felvételezések alapján megállapítottuk, hogy az adott termőév csapadékviszonyától függően változik a termőfák fogékonyságbeli mértéke. Mind a négy tájegység diópopulációjának fogékonyság felmérését két-két hasonló évjáratban sikerült elvégezni. Felső-Háromszéken 2009 és 2010-ben jártuk be a terepet bonitálva a termőfák fertőzöttségét levélen és termésen egyaránt. A Maros, Nyárad és a Kis-Küküllő folyók közötti dombvidéken rögzített termőfák bonitálását 2010 és 2011-ben értékeltük. A Felső-Háromszéken fellelhető állomány termőfáin mindkét növényi szerv esetében a települések statisztikailag négy homogén csoportra különültek el. Mind a lombzat, mind a termésburok fertőzöttsége mindkét vizsgálati év (2009 és 2010) vegetációs időszakában Dálnok és Lemhény településein rögzített termőfák esetében alacsony volt. A Maros-tere felvételezett állományában 2010-ben az ernyei termőfákon szignifikánsan alacsony fertőzöttséget állapítottunk a többi településhez viszonyítva. A Nyárad-mente állományában 2010-ben Backamadaras és Somosd termőfái lomblevelein és termésen határoztunk meg viszonylag alacsonyabb betegség mértéket. 2011-ben ez a tendencia csak a backamadarasi populációban volt megfigyelhető. A termésburok fertőzöttsége a torboszlói termőfákon volt figyelemre méltóan alacsony. A Küküllő-mentén 2010 vegetációs időszakában a két növényi szerv különböző mértékű fertőzöttséget mutatott mindkét településen.

Vizsgálataink azt bizonyítják, hogy Közép- és Kelet Erdély adott termőhelyein vizsgált dióállomány magas biológiai értékkel rendelkezik a xantomonasszal szembeni toleranciáját és a termésminőségét illetően.

A begyűjtött izolátumok biokémiai azonosításainak eredményeiből az API 20 NE rendszer teszt alapján a részletesen vizsgált NCPPB 411 (NZ) törzs, mint kontroll, valamint a Kárpát-medencében begyűjtött izolátumokból a mesterséges fertőzésekhez kiválasztott B.02490 (HU) és

B.02489 (RO) *Xaj* törzsek azonos módon asszimilálták a szubsztrátokat. Különbséget csak a trisodiumcitrate esetében tapasztaltunk. API 50 CH teszt alkalmazásával vizsgált három *Xaj* törzs a 49 különböző szénhidrátból a B.02490 (HU) és a B.02489 (RO) törzs teljesen megegyező szénhidrátokat hasznosított azzal a különbséggel, hogy a B.02489 gyorsabban, míg a B.02490 lassabban hasznosította azokat. A kontrollként alkalmazott, Új-Zélandról származó törzs négy szénhidráttal kevesebbet hasznosított, mint a két izolátum. E különbségből adódóan az adott termőhelyen jelenlevő rasszokkal szemben ellenálló fajtákat kell kiválasztani, vagy a nemesítés során a helyi rasszokkal szemben jól viselkedő genotípusokat célszerű az adott populációból kiemelni, illetve a keresztezéses nemesítés esetén szülőpárként alkalmazni.

A Magyarországon nemesített diófajták és az erdélyi diópopulációkból kiválasztott szelekciók xantomonaszos betegségekre való fogékonyságát négy egymás utáni évben mesterséges inokulációs eljárással teszteltük. Az inokulációs hely körül kilakult nekrotikus foltátmérő adatait felhasználva Özaktan *et al.* (2008b) által kidolgozott ötfokozatú skála felhasználásával számoltuk ki a fertőzési indexet. A fertőzöttségi skála adatai alapján, Bertrand és Gottwald (1986) útmutatásai szerint meghatároztuk a fertőzöttség mértékét (Fm). Néhány fajtánál a vizsgálati évek eredményei között nagy eltéréseket tapasztaltunk, melyek fogékonyságának tisztázása érdekében további vizsgálatok szükségesek. Megállapítható, hogy az erdélyi szelekciók közül a SZEN-10 és a SOM-101 genotípusok alacsony fertőzöttséget mutattak, melyek esetében a különböző évek eredményei alapján mérsékelt rezisztenciát és mérsékelt fogékonyságot állapítottunk meg. A Magyarországon nemesített fajták közül alacsony mértékű fogékonyságot a 'Milotai kései', az 'Alsószentiváni 118', M-10-25, a 'Milotai bőtermő' mutatott. A fajták többségénél a különböző években kapott eredmények többségében egybehangzóak voltak.

A fertőzés élettani hátterével kapcsolatos kutatásunk tisztázta a különböző fenolvegyületek hatását. Eredményeink alapján a vizsgált diófajták esetében nagyfokú eltérések mutatkoztak a különböző fenolvegyületek természetes aktivitása tekintetében. A dió fajták éretlen termésének zöldburokában csökkenő sorrendben rendezve a vizsgálatba vont fenolvegyületek közül legnagyobb mennyiségben a kvercetin és a juglont mértük, ezt követte a kvercetin 3-glükozid, fahéjsav, (+)-katekin, rutin, klorogénsav, kvercitrin, pirokatechin, galluszsav, (-)-epikatekin, sziringasav, vanillinsav. A pirotokatekin akkumulációja volt a legalacsonyabb.

Megállapítottuk, hogy a fertőzés hatására a fajták fogékonyságának mértéke szerint eltérés mutatkozott a különböző fenolvegyületek aktivitásában. A három fajta és szelekció közül legnagyobb különbségeket a 'Pedro' esetében állapítottunk meg a kontroll és a fertőzött kezelés tekintetében. Legalacsonyabb volt a különböző fenolvegyületek szerepe a nagyon fogékony ALB-22 esetében.

A különböző fenolvegyületek antibakteriális hatásának igazolására kifejlesztettünk egy gyors színmérésen alapuló módszert, mellyel az MTT-vel való festést követő színváltozás mérhető. A módszer a dehidrogenáz aktivitást detektáló MTT és a metabolikusan aktív baktériumsejt kölcsönhatásán alapszik. Az élő baktériumsejtek száma és az MTT-formazánná történő átalakulás, azaz a sötét szín intenzitása között lineáris összefüggés van. A Konica Minolta CR-400 típusú tristimulusos színmérő műszer alkalmazásával pontos mérési adatokat kaptunk (L^* , a^* , b^* koordináták) az egyes fenolvegyületek színváltozásáról. A fenolvegyület-mentes kontrollhoz viszonyítva a - vanillinsav, sziringasav, klorogénsav, protokatekin, galluszsav és fahéjsav esetében jelentős kivilágosodó színváltozással tudtuk bizonyítani az antibakteriális hatást. A színváltozás alapján nem igazolódott az antibakteriális hatás a pirokatekin, rutin, (-)-epikatekin és a (+)-katekin fenolok esetében. A juglonnál – feltehetően a feloldás utáni sárga szín miatt – a módszer nem bizonyult alkalmazhatónak.

Az antibakteriális hatás igazolása céljából alkalmazott lemezöntés módszer eredményei alapján - a színmérésen alapuló módszerrel ellentétben - a juglon tenyészetében a baktériumtelepek száma 10 percel az inokuláció után 2×10^5 volt, míg 1 órával később vett inokulum esetében a telepfejlődés elmaradt.

A zöldburok-présnedv antibakteriális hatásának vizsgálati eredményei alapján megállapítottuk, hogy a különböző fogékonyságú fajták zöldburkából származó présnedv nem ad szignifikáns különbséget a kioltási zónák alapján. Továbbá arra a következtetésre jutottunk, hogy a fertőzött és a nem fertőzött zöldburokból származó présnedv antibakteriális hatása nem különbözik szignifikánsan. Ugyanakkor összefüggést mutattunk ki az összes polifenol-tartalom és a kioltási zónák nagysága között. Ez alapján azt a kijelentést tehetjük, hogy a magasabb polifenol-tartalommal rendelkező diófajták termése ellenállóbb a dió baktériumos foltosság kórokozójával szemben.

9. SUMMARY

Our research mapped the walnut populations of Transylvania in the Felső-Háromszék region and on the rolling hills between the Maros, Nyárád and Kis-Küküllő rivers. During fieldwork we collected data on vegetative attributes, fruit morphology and walnut blight disease susceptibility from 648 fruiting walnut trees in 57 settlements.

Based on field observations and laboratory measurement data we conclude that our research area has a diverse and valuable walnut population. The surveyed walnut population is seed propagated resulting in great genetic diversity and consequently great diversity in quantitative and qualitative attributes.

When examining the walnut trees' susceptibility to walnut blight in field conditions we observed that the level of susceptibility changes based on precipitation characteristics in a given year. For all four study regions, we managed to assess walnut blight susceptibility in 2 years with similar precipitation characteristics. In 2009 and 2010 we examined the walnut population of Felső-Háromszék, surveyed the tree's level of infection based on both the leaves and the fruits. In 2010 and 2011 we surveyed the tree's level of infection of the walnut population on the rolling hills between the Maros, Nyárád and Kis-Küküllő rivers. Based on the collected data, the settlements of the Felső-Háromszék region could be divided into four homogenous groups. In the vegetative period of both study years (2009 and 2010) the infection level was low for both the foliage and husk in Dálnok and Lemhény settlements. In the walnut population of the Maros region in 2010 the trees in Ernye settlement showed significantly low levels of infection compared to the other settlements of the region. In the walnut population of Nyárád-mente in 2010 we identified relatively low levels of infection for the foliage and husks in the Backamadars and Somosd settlements. In 2011 this trend was noticed only for the walnut trees in Backamadars. The level of husk infection was noticeably low in the walnut trees of Torboszló. In the Küküllő region in 2010 the leaves and fruits showed different levels of infection in both settlements. Our research demonstrates that the walnut populations of our study areas in Central and Eastern Europe have high biological value with regards to *Xaj* resistance and fruit quality.

The results of the biochemical identification of the collected isolates using the API 20 NE system test showed that the control strain NCPPB 411 (NZ) and the two isolates selected for artificial inoculation from the Carpathian Basin – B.02490 (HU) and B.02489 (RO) *Xaj* strains – assimilated the substrates identically. There were differences only for trisodiumcitrate. The API 50 CH test indicated that out of 49 different carbohydrates the B.02490 (HU) and B.02489 (RO) strains utilised exactly the same carbohydrates, with the only difference being that B.02489 utilised

these faster than B.02490. The control strain from New Zealand utilized four fewer carbohydrates (see carbohydrates 22, 31, 35, 37) than the isolates from Carpathian Basin. Given these differences we have to choose cultivars that are resistant to the races present in a particular growing area, or it is advisable to select those phenotypes for breeding or cross-breeding which are resistant to the local races.

In four consecutive years we evaluated the susceptibility to bacterial blight disease for cultivars developed in Hungary and for selections from Transylvania by artificial inoculation in an in vitro experiment. The dimensions of the necrotic area around the inoculation point were used to calculate the susceptibility indices using the five-stage infection scale developed by Özaktan *et al.* (2008b). Based on these results, the disease rating was then determined as an index using the formula from Bertrand és Gottwald (1986). For many cultivars the yearly results showed big variations and therefore the assessment of their susceptibility to the disease will require further research. Among Transylvanian selections, SZEN-10 and SOM-101 genotypes showed low levels of infection and based on data from the study years these were determined to have moderate resistance and moderate susceptibility. For the Hungarian cultivars, 'Milotai kései', 'Alsószentiváni 118', M-10-25 and 'Milotai bőtermő' showed a low degree of susceptibility. For the majority of cultivars and selections the results from different study years indicate consistent levels of susceptibility and resistance.

Our research on the physiological background of walnut blight disease infection elucidated the impact of various phenolic compounds. Among the studied walnut cultivars and selections our results showed a high degree of variability in the metabolism of phenolic compounds. In the husks of immature walnut fruits the highest concentration among the analysed phenolic compounds was measured for quercetin and juglone, followed by quercetin 3-glucoside, cinnamic acid, (+)-catechin, rutin, chlorogenic acid, quercitrine, pirocatechin, gallic acid, (-)-epicatechin, syringic acid, vanillic acid, while pirocatechin registered the lowest concentration.

We observed that following infection there were differences in the activity of the different phenolic compounds based on the susceptibility level of cultivars. Out of the four cultivars, 'Pedro' showed the biggest differences between the infected and control treatments. The various phenolic compounds had the smallest impact in the case of the highly susceptible ALB-22 selection.

To prove the antibacterial effect of various phenolic compounds we devised a quick method based on colour measurement that quantified the colour change from the addition of MTT. This method is based on the interaction between the metabolically active bacterial cell and MTT which detects dehydrogenase activity. There is a linear relationship between the number of living bacterial cells and the transformation of MTT into formazan, that gives the intensity of the dark colour. By using the Konica Minolta CR-400 tristimulus colorimeter, we were able to get accurate

measurements (L^* , a^* , b^* coordinates) of the impact of various phenolic compounds. Out of the studied phenolic compounds, a significant and complete colour change was identified for vanillic acid, syringic acid, chlorogenic acid, protocatechuic acid, gallic acid and cinnamic acid compared to the control that did not contain the bacterial cell. A different control was used for juglone. No antibacterial impact was identified based on colour change for pyrocatechin, rutin, (-)-epicatechin and (+)-catechin phenolic compounds.

In contrast to the colour measurement method used to prove the antibacterial effect of various phenolic compounds, the results of the sheet molding method indicated 2×10^5 bacterial colonies in the juglone culture 10 minutes after inoculation, while in the sample taken 1 hour after inoculation the bacterial colonies were absent.

Based on the results from the examination of the husk expressed husk liquid's antibacterial impact, we concluded that the expressed husk liquid from cultivars with different level of susceptibility does not result in significant differences of inhibition zone. The antibacterial effect of the expressed husk liquid from infected and healthy husks does not differ significantly. At the same time we identified a correlation between polyphenol content and the dimensions of inhibition zone. Based on these findings we conclude that the fruit of walnut cultivars with higher polyphenol content are more resistant to bacterial blight infection.

10. IRODALOMJEGYZÉK

1. ACHIM G., BOTU M., BOTU I. (2007): 'Portval' - a new walnut rootstock. *Acta Horticulturae* 760, 549-554. p.
2. ADASKAVEG J.E., FÖRSTER H., DIEGUEZ-URIBEONDO J., THOMPSON D., ADAMS C.J., THOMAS C., BUCHNER R., OLSON B. (2000): Epidemiology and management of walnut blight. *Walnut Research Reports*. 329-357. p. http://walnutresearch.ucdavis.edu/2000/2000_329.pdf
3. ADASKAVEG J.E., FÖRSTER H., THOMPSON D., ENNS J., CONNELL J., BUCHNER R. (2009): Epidemiology and management of walnut blight. *Walnut Research Reports*. 241-257. p. http://walnutresearch.ucdavis.edu/2009/2009_241.pdf
4. ADASKAVEG J.E., KIRKPATRICK B.C., BUCHNER R., OLSON B. (1995): Epidemiology and management of walnut blight. *Walnut Research Reports*. 237-256. p. http://walnutresearch.ucdavis.edu/1995/1995_237.pdf
5. AGRIOS GN. (1997): Plant Pathology. 4th Edition. New York: Academic Press. 635 p.
6. AKCA Y., OZONGUN S. (2004): Selection of late leafing, late flowering, laterally fruitful walnut (*Juglans regia*) types in Turkey. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 32, 337-342. p. DOI: 10.1080/01140671.2004.9514313
7. AKCA Y., SEN S. M. (1994): Studies on selection of walnut (*Juglans regia*) in Grun. 179-181. p. In: SCHMIDT H., KELLERHALS M. (Szerk.): *Progress in Temperate Fruit Breeding*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 470 p.
8. AKI PÁIR: Agrárpiaci jelentések Zldsg, Gymlcs s Bor. XVIII. vfolyam, 22. szm, 2014. 6-7. p.
9. ALETÀ N., NINOT A., MORAGREGA C., LLORENTE I., MONTESINOS E. (2001): Blight sensitivity of Spanish selections of *Juglans regia*. *Acta Horticulturae* 544, 353-362. p.
10. AMARAL J. S., VALENTAO P., ANDRADE P.B., MARTINS R.C., SEABRA R.M. (2008): Do Cultivar, Geographical Location and Crop Season Influence Phenolic Profile of Walnut Leaves? *Molecules* 13, 1321-1332. p. DOI:10.3390/molecules13061321
11. AMARAL J.S., SEABRA R.M., ANDRADE P.B., VALENTAO P., PEREIRA J.A., FERRERES F. (2004): Phenolic profile in the quality control of walnut (*Juglans regia* L.) leaves. *Food Chemistry* 88, 373-379. p. DOI:10.1016/j.foodchem.2004.01.055
12. ARADHYA M., WOESTE K., VELASCO D. (2010): Genetic diversity, structure and differentiation in cultivated walnut (*Juglans regia* L.). *Acta Horticult* 861, 127–132. p.

13. ARK P.A. (1944): Pollen as a source of walnut bacterial blight infection. *Phytopathology* 34, 330-334. p.
14. ARQUERO O., LOVERA M., RODRIGUEZ R., SALGUERO A., TRAPERO A. (2006): Characterisation and development of necrotic lesions of walnut tree fruits in southern Spain. *Acta Horticulturae* 705, 457–464. p.
15. ARRIETA A., DÍAZ B. (2007): Native genotypes of the walnut tree (*Juglans regia* L.) potentially tolerant to *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis* : prospection and selection. Cost 873, WG3/WG4 Joint Meeting, Murcia 2007
http://www.cost873.ch/_uploads/_files/m_Atanasio_murcia.pdf
16. ARSENIJEVIC M., OBRADOVIC A. (2007): Overview of stone fruit and nut bacterial diseases and their control in Serbia. Cost 873, WG3/WG4 Joint Meeting, Murcia, Spain.
[http:// www.cost873.ch/_uploads/_files/m_arsenijevic_murcia.pdf](http://www.cost873.ch/_uploads/_files/m_arsenijevic_murcia.pdf)
17. AŞKIN A., GÜN A., (1995): The selection studies on the walnut (*Juglans regia* L.) grown in Cameli and Bozkurt districts. *2nd Natl. Hort. Cong. 3–6 Oct. 1995*. Adana, Turkey. 1, 461–463. p.
18. ASLAMARZ A. VAHDATI K., RAHEMI M., HASSANI D. (2009): Estimation of chilling and heat requirement of some Persian cultivars and genotypes. *HortScience* 44 (3), 697-701. p.
19. ASLANTAŞ R., (2006): Identification of superior walnut (*Juglans regia*) genotypes in north-eastern Anatolia, Turkey. *New Zealand J. Crop Hortic.* 34, 331–337 p. DOI:10.1080/01140671.2006.9514412
20. BALÁS Á. (Szerk.) (2009): Maros megye. Csíkszereda: Pallas-Akadémia Könyvkiadó. 368 p.
21. BANDI A., TÓTH M., HEVESI M., THIESZ R. (2010): Walnut selections susceptibility to *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*. Preliminary results. *Lucrări științifice USAMVB, Seria B*, vol. LIV, 366-371. p.
22. BARUT E. (1996): Overview of walnut culture in Turkey. *The Horticulturist*, 5, 28-29. p.
23. BAYRAM M, (2012): Pomological and phonological characterization of promising walnut (*Juglans regia* L.) genotypes from Malatya, Turkey. *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus* 11(4) 2012, 169-178. p.
24. BEGUE W.J., KLINE R.M. (1972): The use of tetrazolium salts in bioautographic procedures. *J. Chromatogr.* 64, 182-184. p. DOI:10.1016/S0021-9673(00)92965-0
25. BELISARIO A., ZOINA A., PEZZA L., LUONGO L. (1997): Susceptibility of species *Juglans* to pathovars of *Xanthomonas campestris*. *European Journal of Forest Pathology* 29, 75–80. p. DOI: 10.1046/j.1439-0329.1999.00132.x

26. BENETT R.C., WALLSGROVE R.M. (1994): Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *Tansley Review No. 72, New Phytol* 127, 617-633. p. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1994.tb02968.x
27. BERG L. S. (1950): Natural regions of the U.S.S.R. New York: Macmillan Company. 436 p.
28. BERGEY D.H., HARRISON F.C., BREED R.S., HAMMER B.W., HUNTOON F.M. (1930): Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 3rd edn. Baltimore: William and Wilkins. 610 p.
29. BERTRAND P.F., GOTTWALD T.R. (1986): Evaluating fungicides for pecan disease control, 179-181. p. In: HICKEY K.D. (Ed.). Methods for evaluating pesticides for control of plant pathogens. St-Paul, Minnesota: APS Press. 319 p.
30. BEYHAN O. (1993): Studies on breeding by selection of Darende walnuts (*Juglans regia* L.). Ph. D. Thesis. (in Turkish with English summary). Yuzuncu Yıl Univ. Van, Turkey., 2 p. cit. In: BAYRAM M, (2012): *Pomological and phonological characterization of promising walnut (Juglans regia L.) genotypes from Malatya, Turkey*. Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus 11(4) 2012, 169-178. p.
31. BOTU I., (1994): Ameliorarea plantelor horticole. Craiova: Reprografia Univ. din Craiova. 332 p.
32. BOTU M., BOTU I., ACHIM G.H., GODEANU I. (2001): Genetic variability of the *Juglans regia* L. natural populations from Oltenia-Romania. *Acta Horticulturae* 544, 149-154. p.
33. BOTU M., BOTU I., ACHIM G.H., TUDOR M. (2007): Walnut cultivars in Romanian conditions. *Acta Horticulturae* 760, 555-562. p.
34. BREED R.S., MURRAY E.G.D., SMITH N.R. (1957): Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 7th edn. Baltimore: William and Wilkins. 1094 p.
35. BRITTON G. (1983): The biochemistry of natural pigments. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 366 p.
36. BROWICZ K. (1976): Juglandaceae. 1-5. p. In: K.H. RECHINGER (Szerk.): *Flora Iranica*. Akademische Druck-u Verlagsanstalt Vol. 121, Austria. 5 p.
37. BRUNETON J. (1993): Pharmacogosie, phytochimie, plantes medicinales. *Tec.& Doc.-Lavoisier, Paris*, 348 p.
38. BUCHNER R.P., LINDOW S.E., ADASKAVEG J.E., GILLES C.K., KOUTSOUKIS R. (2012): Walnut blight control using integrated pest management techniques. *Walnut Research Reports* 2012, 329-344. p. http://walnutresearch.ucdavis.edu/2012/2012_329.pdf
39. BUCHNER R.P., OLSON W.H., ADASKAVEG J.E. (2001): Walnut blight (*Xanthomonas campestris* pv *juglandis*) control investigations in northern California, USA. *Acta Horticulturae* 544, 369–378. p.

40. BUJDOSÓ G. (2002): Új fajták és újabb nemesítésű diófajta jelöltek érzékszervi bírálata. *Kertgazdaság* 34 (3), 26-31. p.
41. BUJDOSÓ G. (2006): Hazai diófajták áruértéke. 54-58. p. In: SZENTIVÁNYI P., KÁLLAY T.-NÉ (Szerk.): *Dió*. Budapest: Mezőgazda Kiadó. 204 p.
42. BUJDOSÓ G. (2007): Áruérték-vizsgálat diónál. *Kertészet és Szőlészet*. 56 (24), 13-14. p.
43. BUJDOSÓ G. (2008): Slovén diófajták értékelése. *Kertészet és Szőlészet*. 57 (48), 14-15.p.
44. BUJDOSÓ G. (2013): A hazai diótermesztés aktuális kérdései. *Piac és Technológia: Zöldség és gyümölcs*. 17 (10), 9-10. p.
45. BUJDOSÓ G., VÉGVÁRI GY., HAJNAL V., FICZEK G., TÓTH M. (2014): Phenolic Profile of the Kernel of Selected Persian Walnut (*Juglans regia* L.) Cultivars. *Not Bot Horti Agrobo*, 42(1), 24-29. p.
46. BUJDOSÓ G.. (2004): Előnyben a helyi fajták. *Kertészet és Szőlészet*. 53 (51-52), 12-13. p.
47. CABI-EPPO (2001): *Xanthomonas arboricola* pv.*juglandis*. Distribution Maps of Plant Diseases, No. 133.
48. CHARIOT G., GERMAIN E. (1988): Le noyer–Nouvelles techniques. Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes, Paris, 205 p.
49. CHEVALLIER A., BRAY O., PRUNET J.P., GIRAUD M. (2009): Factors influencing walnut blight symptoms emergence and development. *Acta Hort*. 861, 473-478. p.
50. COCIU V. (1983): Originea și aria de răspândire a nukului. 6 p. In: COCIU V., Vasilescu V., Parnia P., Godeanu I., Onea I. (Coord.): *Cultura nukului*. București: Editura Ceres. 164 p.
51. COCIU, V., BOTU I., SERBOIU L. (1999): Progrese în ameliorarea plantelor horticole din România, București: Editura Ceres. 216 p.
52. COLARIC M., STAMPAR F., HUDINA M., SOLAR A. (2006): Sensory evaluation of different walnut cultivars (*Juglans regia* L.). *Acta Agric. Slovenica* 87, 403-413. p.
53. COOKSEY D.A. (1990): Genetics of bactericide resistance in plant pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 28, 201–219. p.
DOI: 10.1146/annurev.py.28.090190.001221
54. COSMULESCU S., BOTU M., TRANDAFIR I, (2010): Mineral composition and physical characteristics of Walnut (*Juglans regia* L.) cultivars originating in Romania. *SELCUK JOURNAL OF AGRICULTURE & FOOD SCIENCES / SELCUK TARIM*ve; 2010, Vol. 24 Issue 4, 33-37. p.
55. COSMULESCU S., TRANDAFIR I. (2011a): Variation of phenols content in walnut (*Juglans regia* L.). *South Western Journal of Horticulture, Biology and Environment* 1(2), 25-33. p.

56. COSMULESCU S., TRANDAFIR I. (2011b): Seasonal variation of total phenols in leaves of walnut (*Juglans regia* L.). *J Med Plants Res* 5(19), 4938-4942. p.
57. COSMULESCU S., TRANDAFIR I. (2012): Anti-oxidant activities and total phenolics content of leaf extracts from 14 cultivars of walnut (*Juglans regia*). *J Hortic Sci Biotech* 87(5), 504-508. p.
58. COSMULESCU S., TRANDAFIR I., ACHIM GH., BOTU M., BACIU A., GRUIA M. (2010): Phenolics of Green Husk in Mature Walnut Fruits. *Not. Bot. Hort. Agrobot.* 38 (1), 53-56. p.
59. D. ROZSNYAY ZS. (2006): A dió növényvédelme. Baktériumos betegségek. 129. p. In: SZENTIVÁNYI P., KÁLLAY T- NÉ (Szerk.): *Dió*, Budapest: Mezőgazda Kiadó. 204 p.
60. DASTJERDI R., HASSANI D. (2009): Response of walnut genotypes to *Gnomonia leptostyla*. (Fr.) Ces. & de Note in greenhouse. *Seed and Plant* 1-25 (3), 433-449. p.
61. DASTJERDI R., HASSANI D., JAVAN NIKKHAH M. (2009): Study of some characteristics, assessment of pathogenicity and diversity in *Gnomonia leptostyla* isolates, causal agent of walnut anthracnose in Iran. *Iran J. Plant Path.* 1(45), 61-73. p.
62. DAVIS P. H. (Szerk.) (1982): Flora of Turkey and the East Aegean islands, Vol. 7. Edinburgh: Edinburgh University Press. 948 p.
63. DEACONU I., COSMULESCU S., BOTU M. (2007): Sortimentul actual si perspectivele îmbunătățirii lui. 52-67. p. In.: COCIU V. (Coordonator): *Culturile nucifere*. București: Editura Ceres. 350 p.
64. DEACONU I., VASILESCU V. (1997): The contribution of the Romanian research to collecting and use of tree germplasm from walnut trees. III International Walnut Congress. Alcobaça Gomes-Pereira (ed). *Acta Hort.* 41, 271-276. p.
65. DEHGHAN B., VAHDATI K., HASSANI D., REZAEI R. (2010a): Bench grafting of Persian walnut as affected by pre- and post-grafting heating and chilling treatments. *J. of Horticultural Science and Biotechnology* 85(1), 48-52. p.
66. DEHGHAN B., VAHDATI K., REZAEI R., HASSANI D. (2010b): Walnut grafting success as affected by different grafting methods, cultivars and forcing treatments. *Acta Hort.* 861, 345-352. p.
67. DENZER H. (2008): First approaches to characterize climatic differences in 2008 in between Badenia, Germany and Styria, Austria explaining big differences in *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* disease frequency. Cost 873, WG and Management Committee Meeting, Athens, Greece. http://www.cost873.ch/uploads/files/Denzer_walnut2008.pdf

68. DIRLEWANGER E. (2010): Genetic mapping and MAS of resistance genes in stone fruit and nut trees at INRA. Cost 873 STF Meeting, Barcelona, Spain. http://www.cost873.ch/_uploads/_files/EDirlewanger_GeneticMappingPeach.pdf
69. DIXON R.A., PAIVA N.L. (1995): Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7, 1085-1097. p. DOI:10.1105/tpc.7.7.1085
70. DORNYAY B. (1937): A dió őshonossága a Balaton vidékén. László Jenő könyvnyomdája. Tapolca. 11 p. cit. In: PORPÁČZY A., SZENTIVÁNYI P., BRÓZIK S. (1955) : *A dió.* – Bp. Akadémiai Kiadó, 76 p.
71. DOWSON W. J. (1939): On the systematic position and generic names of the gram negative bacterial plant pathogens. *Zentr. Bakter. Parasit. Infekt.* II 100, 177-193. p.
72. DU PLESSIS H.J., VAN DER WESTHUIZEN T.J. (1995): Identification of *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis* from (Persian) English walnut nursery trees in South Africa. *Journal of Phytopathology* 143, 449–454. p. DOI: 10.1111/j.1439-0434.1995.tb04552.x
73. DYE D. W., BRADBURY J. F., GOTO M., HAYWARD A. C., LELLIOTT R. A., SCHROTH M. N. (1980): International standards for naming pathovars of phytopathogenic bacteria and a list of pathovar names and pathotypes. *Rev. Plant Pathol.* 59, 153-168. p.
74. EBRAHIMI A., ZAREI A., FATAHI R., GHASEMI VARNAMKHAHI M. (2009): Study on some morphological and physical attributes of walnut used in mass models. *Sci. Hortic.*, 121, 490–494. p. DOI:10.1016/j.scienta.2009.02.021
75. ERCISLI S., SAYINCI B., KARA M., YILDIZ C., OZTURK I. (2012): Determination of size and shape features of walnut (*Juglans regia* L.) cultivars using image processing. *Scientia Horticulturae*, Vol.133 (1), 47-55. p. DOI:10.1016/j.scienta.2011.10.014
76. ESTERIO M.A., LATORRE B.A., (1982): Potential sources of inoculum of *Xanthomonas juglandis* in walnut blight outbreaks. *Journal of Horticultural Science* 57, 69–72. p.
77. EURÓPAI KÖZÖSSÉGEK BIZOTTSÁGA 175/2001/EK RENDELETE (2001. január 26.) a héjas dióra vonatkozó minőségi előírások megállapításáról. Az Európai Unió Hivatalos Lapja 03/31. kötet p. 215 (L 26/24. 2001.1.27) <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/HU/TXT/PDF/?uri=CELEX:32001R0175&from=HU>
78. FAOSTAT 2014, Production of Walnut with shell by countries". UN Food & Agriculture Organization. 2012. <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>
79. FERNÁNDEZ-LÓPEZ J., PEREIRA S. (1997): Genetic control of growth in *Juglans regia* seedlings from open families of different provenances. III international Walnut Congress. Alcobaca. Gomes-Pereira (ed) *Acta Hort.* 411, 69-75. p.
80. FINNEY L.A., O'HALLORAN T.V. (2003): Transition metal speciation in the cell: insights from the chemistry of metal ion receptors. *Science* 300, 931–936. p. DOI: 10.1126/science.1085049

81. FORDE H.I. (1975): Walnuts. 439-455. p. In: JANICK J., MOORE J.N. (Szerk): *Advances in fruit breeding*. Purdue Univ. Press, West Lafayette, Ind. 621 p.
82. FRUTOS D. (2010): Minireview: Bacterial diseases of walnut and hazelnut and genetic resources. *Journal of Plant Pathology* 92(1), 79-85. p.
83. FRUTOS D., LÓPEZ G. (2012): Search for *Juglans regia* genotypes resistant/tolerant to *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* in the framework of Cost Action 873. *Journal of Plant Pathology*, 94 (1, Supplement), 37-46. p. DOI: 10.4454/jpp.v94i1sup.007
84. FUKUDA T., ITO H., HATANO T., YOSHIDA T. (2006): Walnut polyphenols: their structures and functions. *Journal of the Pharmaceutical Society of Japan* 126, 32-35. p.
85. G. TÓTH M. (2001): Dió. 295 p. In: G. TÓTH MAGDOLNA (Szerk): *Gyümölcsészet* (Második, átdolgozott és bővített kiadás). Nyíregyháza: Primom Kiadó. 489 p.
86. G. TÓTH M. (2004): Dió. 321-334. p. In: PAPP JÁNOS (Szerk): *A gyümölcsök termesztése*. Budapest: Mezőgazda Kiadó. 553 p.
87. GAIN Report, EU-28 Tree Nuts Annual 2014, nr. SP1422 – 9/15/2014, USDA Foreign Agricultural Service, Global Agricultural Information Network, 8-10. p.
88. GARCIN A., DUCHESNE D. (2001): Walnut blight and apical necrosis. *Acta Horticulturae* 544, 379-387. p.
89. GARCIN A., EL-MAATAOUI M., TICHADO S., PRUNET J.P., GINIBRE T., PENET C. (2001): Walnut blight, new knowledge for an old disease: summary of research (1995-2000) *Infos-Ctifl* 171, 27–30. p.
90. GARDAN L., BRAULT T., GERMAIN E. (1993): Copper resistance of *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis* in French walnut orchards and its association with conjugative plasmids. *Acta Horticulturae* 311, 259–265. p.
91. GERMAIN E. (1986): Walnut breeding in France. Survey and outlook. *I Comptes Rendus des Seances de l'Academie Agriculture de France*. 353-361. p.
92. GERMAIN E. (1992): Le noyer. 620-632. p. In: GALLAIS, BANNEROT (Eds): *Amélioration des espèces végétales cultivées: objectifs et critères de sélection*. Ed. Inra.
93. GERMAIN E. (1997): Genetic improvement of the Persian walnut (*Juglans regia* L.). *Acta Hort.* 442, 21-31. p.
94. GERMAIN E., ALETÀ N., NINOT A., ROUSKAS D., ZAKINTHINOS G., GOMES PEREIRA J., MONASTRA F., LIMONGELLI F. (1997): Prospections réalisées dans les populations de semis de noyer de l'Espagne, de Grèce, d'Italie et du Portugal. Caractérisation des populations et description en collections d'études des préselections issues de ces prospections. *Options Méditerranéennes Série B. N°16*. Ed. Ciheam/CE.Dgvi: 7-40. p.
95. GERMAIN E., PRUNET J.P., GARCIN A. (1999): Le noyer. Ed. Ctifl. 279 p.

96. GHARIBZAHEDI S.M.T., MOUSAVI S., HAMEDI M.M., KHODAIYAN F. (2012): Comparative analysis of new Persian walnut cultivars: nut/kernel geometrical, gravimetical, frictional and mechanical attributes and kernel chemical composition. *Scientia Horticulturae*, 135, 202-209. p. DOI:10.1016/j.scienta.2011.11.030
97. GIRAUD M., PRUNET J.P., CHEVALLIER A., RAMAIN S., THIRIAUD V., SANTRAC I., BRAY O., (2010): Study of *Xanthomonas arboricola* pv. *Juglandis* population dynamics in French walnut orchards over three years. *Acta Horticulturae* 861, 439–443. p.
98. GÎRZU M., CARNAT A., PRIVAT A-M., FIALIP J., CARNAT A-P., LAMAISON J-L. (1998): Sedative effect of walnut leaf extract and juglone, an isolated constituent. *Pharmaceutical Biology* 36, 280–286. p. DOI:10.1076/phbi.36.4.280.4580
99. GLITS M., FOLK GY. (2001): Kertészeti növénykórtan. Budapest: Mezőgazda Kiadó. 582 p.
100. GOLZARI M., RAHEMI M., HASSANI D., VAHDATI K., MOHAMMADI N. (2012): Protein content, fat and fatty acids of kernel in some Persian walnut (*Juglans regia* L.) cultivars affected by kind of pollen. *JFST* 38 (10), 21-31. p.
101. GOLZARI M., RAHEMI M., VAHDATI K., HASSANI D. (2010): Effect of pollen sources on Persian walnut (*Juglans regia* L.) characteristics. *Acta Hort.* 861, 99-104. p.
102. HAMBURGER M.O., CORDELL G.A. (1987): A direct bioautographic TLC assay for compounds possessing antibacterial activity”. *J. Nat. Prod.* 50, 19-22. p. DOI: 10.1021/np50049a003
103. HASSANI D., ATEFI J., HAGHJOOYAN R., DASTJERDI R., KESHAVARZI M., MOZAFFARI M.R., SOLEIMANI A., RAHMANIAN A.R., NEMATZADEH F., MALMIR A. (2012a): Jamal, a new Persian walnut cultivar for moderate-cold areas of Iran. *Seed and Plant Improvement Journal* 28 (1), 523-525. p.
104. HASSANI D., ATEFI J., HAGHJOOYAN R., DASTJERDI R., KESHAVARZI M., MOZAFFARI M.R., SOLEIMANI A., RAHMANIAN A.R., NEMATZADEH F., MALMIR A. (2012b): Damavand, a new walnut cultivar as a pollinizer for Iranian walnut cultivars and genotypes. *Seed and Plant Improvement Journal* 28 (1), 529-531. p.
105. HASSANI D., DASTJERDI A, R., HAGHJOOYAN R., SOLEIMANI A., KESHAVARZI M., ATEFI J., MOZAFFARI M., REZAEI R., FAHADAN A., RAHMANIAN A. (2014): Genetic improvement of persian walnut (*Juglans regia* L.) in Iran. *Acta Hort.* (ISHS) 1050, 95-102. p.
106. HASSANI D., HAGHJOOYAN R., DAMYAR S., SOLEIMANI A., ATEFI J. (2007): Evaluation of selected Iranian walnut genotypes and foreign cultivars. *International Scientific Conference “Improvement of Fruit, Small Fruit, Nuts and Vine Assortment in Present Management Conditions”*. August, 28-30, 2007, Belarus, 286-290. p.

107. HASSANI D., SOLEIMANI R., HAGHJOOYAN A., SOLEIMANI A., ATEFI J., LONI A. (2013): Evaluation of some walnut cultivars and selections in Iran. *Acta Hort.* 981, 59-64. p.
108. HAYWARD A.C. (1964): Bacteriophage sensitivity and biochemical group in *Xanthomonas malvacearum*. *Journal of General Microbiology* 35, 287–298. p. DOI: 10.1099/00221287-35-2-287
109. HEMERY G., SAVILL PS., THAKUR A. (2005): Height growth and flushing in common walnut (*Juglans regia* L.): 5-year results from provenance trials in Great Britain. *Forestry* 78: 121–133. p. DOI: 10.1093/forestry/cpi012
110. HEUFFEL J. (1858): Enumeratio Plantarum in Banatu Temesiensi. 158 p.
111. 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.
112. HEVESI M., MÓRICZ A.M., KIRÁLY-VÉGHELY ZS., TÓTH M., KÁTAY GY., TYIHÁK E. (2010): Effect of trans-Resveratrol and Ascorbigens on the Fire Blight Pathogen *Erwinia amylovora* in the BioArena System. *Journal of Planar Chromatography* 23 (6), 411-414. p. DOI: 10.1556/JPC.23.2010.6.00
113. HOSHINO N., KIMURA T., YAMAJI A., ANDO T. (1999): Damage to the cytoplasmic membrane of *Escherichia coli* by catechin-copper complexes. *Free Radical Biology and Medicine* 27, 1245–1250. p. DOI:10.1016/S0891-5849(99)00157-4
http://www.cost873.ch/_uploads/_files/m_Athens_Abstracts_FinalBook.pdf
http://www.cost873.ch/_uploads/_files/AnnualMeeting2010_AbstractBook.pdf
114. HUNTER R.E., ROBERTS D.D. (1978): A disease grading system for pecan scab. *Pecan Quarterly* 12(3), 3-6. p.
115. HUNTLEY B., BIRKS H. J. B. (1983): An Atlas of past and present pollen maps for Europe: 0-13000 years ago. Cambridge University Press, Cambridge. 667 p.
116. JAKOPIC J., COLARIC M., VEBERIC R., HUDINA M., SOLAR A., STAMPAR F. (2007): How much do the cultivar and preparing time influence the phenolics content in walnut liqueur? *Food Chem* 104, 100-105. p. DOI:10.1016/j.foodchem.2006.11.008
117. JAKOPIČ J., VEBERIČ R., ŠTAMPAR F. (2009): Extraction of phenolic compounds from green walnut fruits in different solvents. *Acta Agric. Slov.*, 93(1), 11-15. p. DOI: 10.2478/v10014-009-0002-4
118. JALAS J., SUOMINEN J. (Szerk.) (1976): Atlas Florae Europaeae, Vol. 3. The Committee formapping the Flora of Europe, Helsinki, 128 p.
119. JANSE J.D. (2006): *Phytobacteriology – Principles and Practice*. Wallingford, UK: CABI Publishing. 360 p.

120. JENKINS T.A., MARSH C., LANG M.D., VANESTRE J., WALTER M., OBANOR F. (2010): Walnut blight sustainable management research in New Zealand. *Acta Horticulturae* 861, 479–487. p.
121. KERAMAT JAHROMI M., RAFIEE S., JAFARI A., GHASEMI BOUSEJIN M.R., MIRASHEH R., AND MOHTASEBI S.S. (2008): Some physical properties of date fruit (cv. Dairi). *Int. Agrophys.*, 22 (3), 221–224. p.
122. KHENG L.W. (2002): Colour Spaces and Color-Difference Equitation. *Technical Report*. Dept. of Computer Science, National University of Singapore. <https://www.comp.nus.edu.sg/~leowwk/papers/colordiff.pdf>
123. Kholdorov U. (1990): Persian walnut and its management in Tajikistan. Editor V.I. Zapragaeva Donish. Dushanbe. (in Russian)., 7 p. cit. In: MOLNAR T. J., ZAUIROV D. E., CAPIK J. M., EISENMAN S. W., FORD, T., NIKOLYI L. V., FUNK C. R. (2011): *Persian walnuts (Juglans regia L.) in Central Asia. Northern Nut Growers Association 101st Annual Report*, 56-69 p.
124. KILIÇKAN A., GÜNER M. (2008): Physical properties and mechanical behavior of olive fruits (*Olea europaea* L.) under compression loading. *J. Food Eng.*, 87 (2), 222–228 p. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2007.11.028
125. KISGYÖRGY Z. (szerk.) (2000): Kovászna megye. Csíkszereda: Pallas-Akadémia Könyvkiadó. 365 p.
126. KLEMENT Z. (1963): Rapid detection of the pathogenicity of phytopathogenic pseudomonads. *Nature* 199- 300 p. DOI:10.1038/199299b0
127. KLEMENT Z., RUDOLPH K., SANDS D. C. (1990): *Methods in Phyto bacteriology*. Budapest: Akadémiai Kiadó. 568 p.
128. KOMAROV V. L. (Szerk.) (1985): *Flora of the U.S.S.R, Vol. 5. Dicotyledoneae*. Germany: *Koeltz Scientific Books*. 593 p.
129. KÖNTZEY J. (1999): Felső-Háromszék gyümölcstermesztése. 81-82. p. In: *2000 RMGE Kalendárium*. Kolozsvár: Erdélyi Gazda Kiadó. 318 p.
130. KÜDEN A., KAŞKA N., TÜREMIŞ N., (1997): Walnut selection in Middle Taurus Mountains. *Acta Hort.* 442, 117–119. p.
131. LANG M.D., HILLS J.L., EVANS K.J. (2006): Preliminary studies toward managing walnut blight in Tasmania. *Acta Horticulturae* 705, 451–456. p.
132. LEE Y.A., SCHROTH M.N., HENDSON M., LINDOW S.E., WANG X.L., OLSON B., BUCHNER R.P., TEVIOTDALE B., (1993): Increased toxicity of iron-amended copper-containing bactericides to the walnut blight pathogen *Xanthomonas campestris* pv.*Juglandis*. *Phytopathology* 83, 1460–1465. p.

133. LINDOW STEVEN E., BUCHNER R., OLSON B., KOUTSOUKIS R. (2004): Epidemiological approaches to the control of walnut blight disease. *Walnut Research Reports*. 291-314. p. http://walnutresearch.ucdavis.edu/2004/2004_291.pdf
134. LOACKER K., KOFLER W., PAGITZ K., OBERHUBER W. (2007): Spread of walnut (*Juglans regia* L.) in an Alpine valley is correlated with climate warming. *Flora – Morphology, Distribution. Funct. Ecol.* 202, 70-78. p.
135. LÓPEZ M.M., FRUTOS D., MORAGREGA C., ARRIETA A., CAMBRONERO D., CARRILLO G. LÓPEZ A., LACASA C., FRUTOS C. (2007): Evaluation of selections of native walnuts from Asturias for susceptibility to *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* (Xaj) in controlled environment. Cost 873, WG3/WG4 Joint Meeting, Murcia 2007. http://www.cost873.ch/uploads/files/m_lopezXaj_Murcia.pdf
136. LOVERA M., ARQUERO O., SERRANO N., TRAPERO A. (2008): Walnut blight (*Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*): Factors that influence the disease. Cost 873, WG and Management Committee Meeting, Athens, Greece. http://www.cost873.ch/uploads/files/m_Athens_Abstracts_FinalBook.pdf
137. LOZANO C., WHOLEY D.W. (1974): The production of bacteria-free planting stock of cassava, *Manihot seculenta* Crantz. *World crops* 27, 115–117. p.
138. MARCELLETTI S., FERRANTE P., SCORTICHINI M. (2010): Multilocus Sequence Typing Reveals Relevant Genetic Variation and Different Evolutionary Dynamics among Strains. *Diversity*, 2, 1205-1222. p. DOI:10.3390/d2111205
139. MARTIN N.A. (1986): Toxicity of pesticides to *Allolobophora caliginosa* (Oligochaeta: Lumbricidae). *New Zealand Journal of Agricultural Research* 29, 699–706. p. DOI:10.1080/00288233.1986.10430466
140. MATIAS J., ALETÀ N., ROVIRA C., MORAGREGA C., (2009): Phenolic composition in *Juglans regia* commercial cultivars. Relationship with blight susceptibility. Cost 873, Cetara 2009. http://www.cost873.ch/uploads/files/JMatias_WalnutPhenolics_Italy_1.pdf
141. MATIAS J., JAKOPIČ J., SOLAR A., ROVIRA M., ALETÀ N. (2007): Walnut varietal patterns of polyphenol contents. Cost 873, WG3/WG4 Joint Meeting, Murcia, Spain. http://www.cost873.ch/uploads/files/m_Matias_2007_10.pdf
142. MCGRANAHAN G., LESLIE C. (2009): Breeding Walnuts (*Juglans regia*), 249–273. p. In: JAIN SHRI MOHAN, PRIYADARSHAN P. M.: *Breeding Plantation Tree Crops: Temperate Species*. Springer Science & Business Media, 290 p.
143. MCGRANAHAN G., LESLIE CH. (2012): Chapter 22 Walnut. 832-834. p. In: BADENES M.L., BYRNE D.H. (Szerk.): *Handbook of Plant Breeding. Fruit Breeding*. New York: Springer Science+Business Media, 875 p.

144. MCLAREN K. (1976): XIII – The development of CIE 1976 (L*a*b*) Uniform colour space and colour-difference formula. *Journal of the Society of Dyers and Colourist*, 92, 338–341. p. DOI: 10.1111/j.1478-4408.1976.tb03301.x
145. MCNEIL D.L., ROMERO S., KANDULA J., STARK C., STEWART A., LARSEN S. (2001): Bacteriophages: a potential biocontrol agent against walnut blight (*Xanthomonas campestris* pv. *juglandis*). *New Zealand Plant Protection* 54, 220–224. p.
146. MEW T.W., NATURAL M.P. (1993): Management of *Xanthomonas* diseases. 341–362. p. In: J.G. SWINGS, E.L. CIVEROLO (Editors): *Xanthomonas*. London: Chapman and Hall. 399 p.
147. MICHALEK S., MAYER U., TREUTTER D., LUX-ENDRICH A., GUTMANN M., FEUCHT W., GEIBEL M. (1999): Role of flavan-3-ols in resistance of apple trees to *Venturia inaequalis*. *Acta Hort* 484, 535-539. p.
148. MIKULIC-PETKOVSEK M., SLATNAR A., VEBERIC R., STAMPAR F., SOLAR A. (2011). Phenolic response in green walnut husk after infection with bacteria *Xanthomonas arboricola* pv. *Juglandis*. *Physiol Mol Plant Pathol* 3-4(76), 159-165. p. DOI:10.1016/j.pmpp.2011.09.006
149. MILLER P.W., BOLLEN W.B. (1946): Walnut Bacteriosis and its Control: Technical Bulletin No. 9. Corvallis, USA: Oreg. Agric. Exp. Stn. 107 p.
150. MIRZAEV M. M., DJAVACYNCE U.M., ZAUROV D.E., GOFFREDA J.C., ORTON T.J., REMMERS E.G., FUNK C.R (2004): The Shroeder Institute in Uzbekistan: breeding and germplasm collections. *HortScience* 39, 917–921. p.
151. MOHSENIN N.N. (1986): Physical Properties of Plant and Animal Materials. Gordon and Breach Science Publisher, New York Cited In: ERCISLI S., SAYINCI B., KARA M., YILDIZ C., OZTURK I. (2012): *Determination of size and shape features of walnut (Juglans regia L.) cultivars using image processing*. *Scientia Horticulturae*, Vol.133(1), 47-55. p. DOI:10.1016/j.scienta.2011.10.014
152. MOLNAR T. J., ZAUROV D. E., CAPIK J. M., EISENMAN S. W., FORD T., NIKOLYI L. V., FUNK C. R. (2011): Persian walnuts (*Juglans regia* L.) in Central Asia. *Northern Nut Growers Association 101st Annual Report*, 56-69. p.
153. MORAGREGA C. (2012): Detection and identification methods and new tests as developed and used in the framework of cost 873 for bacteria pathogenic to stone fruits and nuts. *Journal of Plant Pathology*, 94 (1, Supplement), 155-159. p. DOI: 10.4454/jpp.v94i1sup.023
154. MÓRICZ Á. (2007): Néhány mikotoxin hatásmechanizmusának vizsgálata BioAréna rendszerben. Doktori Értekezés. Eötvös Loránd Tudományegyetem Természettudományi kar, Kémiai Doktori Iskola, Budapest.

155. MULLER J., SIGEL R.K.O., LIPPERT B. (2000): Heavy metal mutagenesis: insights from bioinorganic model chemistry. *Journal of Inorganic Biochemistry* 79, 261–265. p. DOI:10.1016/S0162-0134(99)00179-8
156. MULREAN E.N., SCHROTH M.N. (1981): A semi-selective medium for the isolation of *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis* from walnut buds and catkins. *Phytopathology* 71, 336–339. p.
157. MULREAN E.N., SCHROTH M.N. (1982): Ecology of *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis* on Persian (English) walnuts. *Phytopathology* 72, 434–438. p. DOI:10.1094/Phyto-72-434
158. NEKRASSOWA V. L. (1927): The genus *Juglans* in Turkestan. *Bulletin of Applied Botany, of Genetics and Plant-Breeding*, 18, 303–360. p.
159. NINOT A., ALETÀ N., MORAGREGA C., MONTESINOS E., (2002): Evaluation of a reduced copper spraying program to control bacterial blight of walnut. *Plant Disease* 86, 583–587. p. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.6.583>
160. NOVACKY A., ULLRICH-EBERIUS CI. (1982): Relationship between membrane potential and ATP level in *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* infected cotton cotyledons. *Physiological Plant Pathology* 21, 237–249. p. DOI:10.1016/0048-4059(82)90042-X
161. OLIVEIRA I., SOUSA A., FERREIRA I. C.F.R., BENTO A., ESTEVINHO L.M., PEREIRA J.A. (2008): Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. *Food and Chemical Toxicology* 46 (7), 2326–2331. p. DOI:10.1016/j.fct.2008.03.017
162. OLSEN B.D., JONES A.L. (1983): Reduction of *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* on Montmorency sour cherry with copper and dynamics of the copper residues. *Phytopathology* 73, 1520–1525. p. DOI:10.1094/Phyto-73-1520
163. OLSON W.H., BUCHNER R.P., ADASKAVEG J.E., LINDOW S.E. (1997): Walnut blight control in California. *Acta Horticulturae* 442, 361–365. p.
164. OREL G., MARCHANT A.D., MCLEOD J.O., RICHARDS G.D. (2003): Characterization of 11 Juglandaceae genotypes based on morphology, cpDNA and RPD. *HortScience* 38, 1178–1183. p.
165. OZKAN G., KOYUNCU M.A. (2005): Physical and chemical composition of some walnut (*Juglans regia* L.) genotypes grown in Turkey. *Grasas y Aceites*, 56 (2), 141–146. p. DOI:10.3989/gya.2005.v56.i2.122
166. ÖLEZ H. (1971): Studies on the selection of walnut (*Juglans regia* L.) in the Marmara region. *Bahçe* 4, 7–21. p.

167. ÖZAKTAN H., ERDAL M., AKKOPRU A., AKAT S (2008a): Information on apical necrosis of walnut in Turkey. Cost 873, WG and Management Committee Meeting, Athens, Greece. http://www.cost873.ch/_uploads/_files/m_Athens_Abstracts_FinalBook.pdf
168. ÖZAKTAN H., ERDAL M., AKKOPRU A., ASLAN E. (2007a): Evaluation of susceptibility of some walnut cultivars to *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* by immature nut test. Cost 873, WG3/WG4 Joint Meeting, Murcia, Spain. http://www.cost873.ch/_uploads/_files/m_ozaktan_murcia.pdf
169. ÖZAKTAN H., ERDAL M., AKKOPRU A., ASLAN E. (2008b): Evaluation of susceptibility of some walnut cultivars to *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* by immature nut test. Cost 873, WG and Management Committee Meeting, Athens, Greece. http://www.cost873.ch/_uploads/_files/Ozaktan_WalnutSusceptibility.pdf
170. ÖZAKTAN H., ERDAL M., AKKOPRU A., ASLAN E. (2007b): Biological control of walnut blight: screening of antagonistic bacteria for *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* and evaluation of their in vitro efficiency. Cost 873, WG3/WG4 Joint Meeting, Murcia, Spain. http://www.cost873.ch/_uploads/_files/abstract%20book_murcia.pdf
171. ÖZAKTAN H., ERDAL M., AKKOPRU A., BOZKURT A., ASLAN E. (2008c): Biological control of walnut blight: screening of antagonistic bacteria for *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* and evaluation of their efficacy. Cost 873, WG and Management Committee Meeting, Athens, Greece.
172. ÖZAKTAN H., ERDAL M., ASLAN E., AKKOPRU A., BOZKURT A. (2010): Evaluation of bacterial antagonists and some chemicals to control of bacterial blight of walnut in Turkey. Annual Cost 873 Meeting, Jurmala, Latvia.
173. PAOLETTI M.G., SCHWEIGL U., FAVRETTO M.R. (1995): Soil macro-invertebrates, heavy metals and organochlorines in low and high input apple orchards and coppiced woodland. *Pedobiologia* 39, 20–33. p.
174. PEREIRA J.A., OLIVEIRA I., SOUSA A., FERREIRA I.C.F.R., BENTO A., ESTEVINHO L., (2008): Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. *Food Chem Toxicol* 46, 2103-2111. p. DOI:10.1016/j.fct.2008.02.002
175. PICCIRILLO P. (2003): The phytopathological situation of walnuts (*Juglans regia* L.) according to observations made by the Fruit Research Institute of Caserta. *Rivista di Frutticoltura e Ortofloricoltura* 65 (10), 39-43. p.
176. PICCIRILLO P., PETRICCIONE M. (2006): Walnut collection of the Italian Research Council of Agriculture in Caserta. *Acta Horticulturae* 705, 177-181. p.
177. PIELKO A., CZYNCZYK A. (1989): Evaluation of selected types of walnuts in Poland. I International Symposium on Walnut Production. Budapes. Szentivanyi (ed). *Acta Hort.* 284, 143-144. p.

178. PIERCE N.B. (1896): Bacteriosis of walnuts. *California Fruit-Grower* 19, 243. p.
179. PIERCE N.B. (1901): Walnut bacteriosis. *Botanical Gazette*, 31, 272-273. p.
180. PIRKHEZRI M., HASSANI D., SOLEIMANI A. (2010): Effect of auxin and gibberlic acid on walnut propagation. *Ferdosi Univ. Journal of Horticultural Science* 24(1), 64-69. p.
181. POLLEGIONI P., WOESTE K.E., GHIOCCHINI F., OLIMPIERI I., TORTOLANO V., CLARK J., HEMERY G.E., MAPELLI S., MALVOLTI M.E. (2014): Landscape genetics of Persian walnut (*Juglans regia* L.) across its Asian range. *Tree Genetics & Genomes, Volume 10, Issue 4, Springer Journals*. 1027-1043. p. DOI 10.1007/s11295-014-0740-2.
182. PRASAD R. B. N. (2003): Walnuts and pecans. 6071-6079. p. In: CABALLERO B., TRUGO L. C., FINGLAS P. M. (Eds.): *Encyclopaedia of food sciences and nutritio*. Academic Press, London.
183. PURI G.S., MEHER-HOMJI V.M., GUPTA R.K., PURI S. (1983): Forest Ecology, Vol. 1: Phytogeography and forest conservation. New Delhi: Oxford & IBH Publishing Co.. 518 p.
184. RADIX P., BASTIEN C., JAY-ALLEMAND CH., CHARLOT G., SEIGLE-MURANDI F. (1998): The influence of soil nature on polyphenols in walnut tissue – a possible explanation of differences in the expression of walnut blight. *Agronomie* 18, 627–637. p.
185. RADIX P., SEIGLE-MURANDI F. (1993): Hazards of copper accumulation in soils of walnut orchards. *Fresenius Environmental Bulletin* 2, 565–569. p.
186. REVIN A.A. (1989): Selection of walnut varieties in Crimea. I International Symposium on Walnut Production. Budapest. Szentivanyi (ed). *Acta Hort.* 284, 157-158. p.
187. RIKHTER A. A., YADROV A. A. (1985): Persian walnut. Agropromizdat. Moscow. (in Russian), 6 p. cit. In: MOLNAR T. J., ZAUROV D. E., CAPIK J. M., EISENMAN S. W., FORD T., NIKOLYI L. V., FUNK C. R. (2011): *Persian walnuts (Juglans regia L.) in Central Asia*. Northern Nut Growers Association 101st Annual Report, 56-69. p.
188. RINK G. (1997): Genetic variation and selection potential for black walnut timber and nut production. In: VAN SAMBEEK J, (Ed.): *Knowledge for the future of black walnut: proceedings of the Fifth Black Walnut Symposium*, Springfield, MO, July 28–31, 1996. General Technical Report NC-191 St. Paul, MN: USDA Forest Service, North Central Forest Experiment Station; 58–62. p.
189. ROVIRA M., MORAGREGA C., ALETÀ N. (2007): Susceptibility study to *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*, of immature fruits in two ‘full-sib’ walnut progenies. Cost 873, WG3/WG4 Joint Meeting, Murcia, Spain.
http://www.cost873.ch/uploads/files/m_rovira_murcia.pdf
190. RUDOLPH B.A. (1933): Bacteriosis (blight) of the English walnut in California and its control. *California Agricultural Experiment Station Bulletin* 564, 3–86. p.

191. RUDOLPH K. (1993): Infection of the plant by *Xanthomonas*. 193–245. p. In: SWINGS J.G., CIVEROLO E.L. (Szerk.): *Xanthomonas*, London: Chapman and Hall. 339 p.
192. RUIZ-GARCÍA L., FRUTOS D., LOPEZ G., FUENTES A. (2009): Molecular characterization of walnut and evaluation of *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* damages in Murcia, Spain. Annual Cost 873 Meeting, Cetara, Italy. http://www.cost873.ch/_uploads/_files/DFrutos_WalnutTyping_Italy.pdf
193. SADRNIYA H., RAJABIPOUR A., JAFARY A., JAVADI A., MOSTOFI Y. (2007): Classification and analysis of fruit shapes in long type watermelon using image processing. *Int. J. Agric. Biol.*, 1, 68–70. p.
194. SAJTOS L., MITEV A. (2007): SPSS Kutatási és adatelemzési kézikönyv. Budapest. Alinea Kiadó. 402 p.
195. SCHMUCKER T. (1942): The tree species of the northern temperate zone and their distribution. *Silvae Orbis 4. Berlin-Wannsee*, Berlin. 54-80. p.
196. SCHUSTER M.L., COYNE D.P. (1974): Survival mechanisms of phytopathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 12, 199-221. p. DOI: 10.1146/annurev.py.12.090174.001215
197. SCORTICHINI M., MARCHESI U., DI PROSPERO P. (2001): Genetic Diversity of *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* (synonyms: *X. campestris* pv. *juglandis*; *X. juglandis* pv. *juglandis*) Strains from Different Geographical Areas shown by Repetitive Polymerase Chain Reaction Genomic Fingerprinting. *Journal of Phytopathology* 149, 325-332. p. DOI: 10.1046/j.1439-0434.2001.00628.x
198. SCZEPOTIEV F. L. (1985): Persian Walnut. 19. p. In: *Nut, Forest, and Orchard Species*, 2nd edn. Moscow: Agropromizdat. 82 p.
199. ŞEN S.M., (1980): Studies on breeding by selection of walrus of north eastern Anatolia and eastern Black Sea region. Ataturk Univ. Erzurum, Turkey (in Turkish with English summary)., 2 p. cit. In: BAYRAM M, (2012): *Pomological and phonological characterization of promising walnut (Juglans regia L.) genotypes from Malatya, Turkey*. Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus 11(4) 2012, 169-178 p.
200. ŞEN S.M., TEKINTAŞ E., (1992): A study on the selection of Adilcevaz walnuts. *Acta Hort*, 317, 171–174. p.
201. SERRANO L., MANKER D., BRANDI F., CALI T. (2013): The Use of *Bacillus subtilis* QST 713 and *Bacillus pumilus* QST 2808 as Protectant Bio-Fungicides in Conventional Application Programs for Black Leaf Streak Control. *Acta Hort.* (ISHS), 986, 149-155. p.
202. SHAHIDI F., NACZK M. (1995): Food phenolics. Sources, chemistry, effects, applications. Lancaster, USA. Technomic Publishing Company, Inc. 319 p.

203. SHARMA S. D., SHARMA O. C. (1998): Studies on the variability in nuts of seedlings of walnut (*Juglans regia* L.) in relation to the tree age. *Fruit Var. J.* 52 (1), 20-23. p.
204. SHARMA S. D., SHARMA O. C. (2001): Genetic divergence in seedling trees of Persian walnut (*Juglans regia* L.) for various metric nut and kernel characters in Himachal Pradesh. *Sci. Hort.* 88, 163-171. p. DOI:10.1016/S0304-4238(00)00204-1
205. SILSEPUR L., KESHAVARZI M., HASSANI D., HASHEMI M. (2010): Necessity of evaluation of different walnut organs for selection of blight resistant cultivars. *Iran. J. Plant Path.* 46 (4), 125-126. p.
206. SINGLETON V. L., ROSSI J. A. (1965): Colometry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid "reagents". *Am. J. Enol. Vitic.*, 16, 144–158. p.
207. SMITH E. F. (1905): Bacteria in Relation to Plant Diseases. Carnegie Inst., Washington DC, USA, 171. p.
208. SMITH R. E, SMITH C. O., RAMSEY H. J. (1912): Walnut Culture in California. Walnut Blight. *Calif. Agr. Exp. Sta. Bull.* 231, 119-398. p.
209. SOLAR A. (1989): Phenological and pomological characteristics of walnut cultivars in Northeastern of Slovenia. I International Symposium on Walnut Production. Budapest 1989. Szentivanyi (ed). *Acta Hort.* 284, 167-174. p.
210. SOLAR A. (2006): Evaluation of some perspective walnut genotypes in Slovenia. *Acta Horticulturae* 705, 131-136. p.
211. SOLAR A., COLARIČ M., HUDINA M., ŠTAMPAR F. (2006a): Phenolic Content of Walnut Fruit as Affected by Cultivar and Developmental Stage. *Acta Hort.* 705, 231-240. p.
212. SOLAR A., COLARIČ M., USENIK V., ŠTAMPAR F. (2006b): Seasonal variations of selected flavonoids, phenolic acids and quinines in annual shoots of common walnut (*Juglans regia* L.). *Plant Science* 170, 453-461. p. DOI:10.1016/j.plantsci.2005.09.012
213. SOLAR A., DREO T., MIKULIC PETKOVSEK M., LIKOZAR A., SUSTARSIC M., VEBERIC R., MATICIC L., RAVNIKAR M., STAMPAR F. (2009): Phenolic compounds as potential markers for walnut blight resistance. Annual Cost 873 Meeting, Cetara, Italy. http://www.cost873.ch/uploads/files/ASolar_Walnut-Phenolics_Italy.pdf
214. SOLAR A., JAKOPIC J., MIKULIC-PETKOVSEK M., VEBERIC R., DREO T., ZADRAVEC P., STAMPAR F., (2008): Validation of polyphenol contents as biochemical markers for walnut blight (*Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*) resistance. Cost 873, WG and Management Committee Meeting, Athens, Greece. http://www.cost873.ch/uploads/files/m_Athens_Abstracts_FinalBook.pdf
215. SOLAR A., JAKOPIC J., VEBERIC R., STAMPAR F. (2007): Phenolic compounds as a potential marker of walnut resistance against *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*. Cost

- 873, WG3/WG4 Joint Meeting, Murcia, Spain.
http://www.cost873.ch/_up_loads/_files/m_Solar_murcia.pdf
216. SOLAR A., JAKOPIC J., VEBERIC R., STAMPAR F. (2012): Correlations between *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* severity and endogenous juglone and phenolic acids in walnut. *Journal of Plant Pathology* 94 (1), 229-235. p. DOI: 10.4454/jpp.fa.2012.013
 217. SOLAR A., STAMPAR F. (2005): Evaluation of some perspective walnut genotypes in Slovenia. *Acta Hort.* 705, 131-136. p.
 218. SOLEIMANI A., RABIEI V., HASSANI D. (2010): Effect of different techniques on walnut grafting. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 8 (2), 544-546. p.
 219. SOLEIMANI A., RABIEI V., HASSANI D., AMIRI M. (2009): Effect of rootstock and cultivar on propagation of Persian walnut (*Juglans regia* L.) using hypocotile grafting. *Seed and Plant* 2-25 (1), 93-101. p.
 220. STALL R.E., GOTTWALD T.R., KOIZUMI M., SCHAAD N. C. (1993): Ecology of plant pathogenic xanthomonads. 265–290. p. In: SWINGS J.G., CIVEROLO E.L. (Editors): *Xanthomonas*, London: Chapman and Hall. 399 p.
 221. STAMPAR F., SOLAR A., HUDINA M., VEBERIC R., COLARIC M. (2006): Traditional walnut liqueur-cocktail of phenolics. *Food Chem.* 95, 627-631. p. DOI:10.1016/j.foodchem.2005.01.035
 222. STOLP H., STARR M. (1964): Bacteriophage reactions and speciation of phytopathogenic xanthomonads. *Journal of Phytopathology* 51, 442–478. p. DOI: 10.1111/j.1439-0434.1964.tb03451.x
 223. STOWE R.P., KOENIG D.W., MISHRA S.K., PIERSON D.L. (1995): Nondestructive and continuous spectrophotometric measurement of cell respiration using tetrazoliumformazan micro-emulsion. *J. Microbiol. Methods* 22, 283—292. p.
 224. SUN T., HO C. (2005): Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chemistry* 90, 743–749. p. DOI:10.1016/j.foodchem.2004.04.035
 225. SÜLE S., PINTER CS., KADLICKO S., FISCHI G. (2007): Bacterial diseases of walnut in Hungary. Cost 873, WG1/WG2 Joint Meeting, Angers, France.
http://www.cost873.ch/_uploads/_files/m_Sule_angers_1.pdf
 226. SÜTYEMEZ M., ETI S. (2001): General pomological characteristics of some of promising walnut types selected in Kahramanmaraş region. *I. National conference on walnuts* September 5–8, Gaziosmanpaşa Univ., Turkey. 177–193. p.
 227. SVÁB J. (1981): Biometriai módszerek a kutatásban. Budapest. Mezőgazdasági Kiadó. 557 p.
 228. SZANI ZS. (2009): Biotic and abiotic stress factors influence on walnut varieties bred in Central Europe. *Cereal Research Communications Supplement*, 37, 329-332. p.

229. SZENTIVÁNYI P. (1955): A dió őshazája és elterjedése a Földön. 11 p. In: PORPÁČZY A., SZENTIVÁNYI P., BRÓZIK S.: *A dió*. – Bp.: Akadémiai K. , 76 p.
230. SZENTIVÁNYI P. (1976): Dió. 9 – 83. p. In: SZENTIVÁNYI P., PEJOVICS B., HORN E. (Szerk.): *Dió, Mandula, Mogoró, Gesztenye*. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 342. p.
231. SZENTIVÁNYI P. (1990): Breeding early fruiting high producing walnut cultivars leafing after late spring frosts. *Acta Hort (ISHS)*, 284, 175-182. p.
232. SZENTIVÁNYI P. (1997): Magyarországon termesztett diófajták, a nemesítés újabb eredményei. *Új Kertgazdaság* 3 (3): 63-66. p.
233. SZENTIVÁNYI P. (2006a): A dió rendszertani helye és alaktana. 31 – 58. p. In: SZENTIVÁNYI P., KÁLLAY T- NÉ: *Dió*. Budapest: Mezőgazda Kiadó. 204 p.
234. SZENTIVÁNYI P. (2006b): Az Országos Mezőgazdasági Minősítő Intézet által elfogadott, államilag elismert árúfajták. 62 – 65. p. In: SZENTIVÁNYI P., KÁLLAY T- NÉ: *Dió*. Budapest: Mezőgazda Kiadó. 204 p.
235. SZILÁDY Z. (1933): Az ősdíófa nálunk és a Balkánon. *Botanikai Közlemények*. 5: 121-137. p.
236. SZILÁDY Z. (1934): A Maros melléki diósvölgyek. *Botanikai Közlemények* 1-2, 38-39. p.
237. TERPÓ A. (1987): Növényrendszertan az ökobotanika alapjaival. II. kötet. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest. 516 p.
238. THIBAUT B., LECOMP P., HERMANN L., BELOUIN A. (1987): Assesment of the susceptibility to *Erwinia amylovora* of the 90 varieties or selections of pear, *Acta Hort* 217, 305-309. p.
239. THIESZ R., BANDI A., TÓTH M., BALOG A. (2007): Epidemiological survey of *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* and *Gnomonia leptostyla* on natural population of walnut (*Juglans regia*) in eastern Transylvania. *International Journal of Horticultural Science*, 13 (4), 7-9. p.
240. THIESZ R., BANDI A., TÓTH M., BALOG A. (2009): Evaluation of an isolated Persian walnut (*Juglans regia* L.) population from Eastern Transylvania, Romania. *J FOOD AGRIC ENVIRON* 6, 132-136. p.
241. TIAN J.B., WANG Y., CHENG E.M., CHEN Q.F., HAN Y.H., HAN F. (2008): A new walnut cultivar 'Jinboxiang 3'. *Acta Horticulturae Sinica* 35, 464. p.
242. TREUTTER D. (2001): Biosynthesis of phenolic compounds and its regulation in apple. *Plant Growth Regulation* 34, 71-89.p. DOI:10.1023/A:1013378702940
243. TREUTTER D. (2005): Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. *Plant Biol* 7, 581-591. p. DOI: 10.1055/s-2005-873009
244. TREUTTER D., FEUCHT W. (1990): The pattern of flavan-3-ols in relation to scab resistance of apple cultivars. *J Hort Sci* 65, 511-517. p.

245. TSANTOS J., VAGELAS I.K., RUMBOS C.I., CHATZAKI A., ROUSKAS D., GRAVANIS F.T. (2007): Evaluation of resistance of cultivated walnut varieties and selections to *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* in Greece. (Paper presented at the Cost 873, WG3/WG4 Joint Meeting, Murcia, Spain) http://www.cost873.ch/uploads/files/m_Tsiantos_murcia.pdf
246. TSANTOS J., VAGELAS I.K., RUMBOS C.I., CHATZAKI A., ROUSKAS D., GRAVANIS F.T. (2008): Evaluation of resistance of cultivated walnut varieties and selections to *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* in Greece. Cost 873, WG and Management Committee Meeting, Athens, Greece. http://www.cost873.ch/uploads/files/Tsiantos_WalnutResistanceInGreekVarieties.pdf
247. TULECKE W., MCGRANAHAN G., (1994): The walnut germplasm collection at the University of California, Davis. A description of the collections and a history of the breeding program of Eugene F. Serr and Harold I. Forde. *Univ. Calif. Genet. Resour. Conserv. Program, Davis, Report no. 13*, 16-25. p.
248. TUTIN T.G., BURGESS N.A., CHATER A.O., EDMONSON J.R., HEYWOOD V.H., MOORE D.M., VALENTINE D.H., WALTERS S.M., WEBB D.A. (1993): Juglandaceae. In *Flora Europaea*, (2nd edn.) Vol. 1. (ed. D.M.Moore). Cambridge: Cambridge University Press. 629 p.
249. USENIK V., OSTERC G., MIKULIC-PETKOVSEK M., TROBEC M., VEBERIC R., COLARIC M., SOLAR A., STAMPAR F. (2004): The involvement of phenolic compounds in the metabolism of fruit trees. *Dissertationes. Academia scientiarum et artium Slovenica*, XLV-1, 187-204. p.
250. VAN ECK J.W., HEIJDEN G.W.A.M., POLDER G. (1998): Accurate measurement of size and shape of cucumber fruits with image analysis. *J. Agric. Eng. Res.*, 70, 335–343. p. DOI:10.1006/jaer.1998.0285
251. VAUTERIN L., HOSTE B., KERSTERS K., SWINGS J. (1995): Reclassification of *Xanthomonas*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 45, 472-489. p.
252. VAVILOV N. I. (1928): Geographische Genzentren unserer Kulturpflanzen. *Z. Abstammungslehre Suppl.1*, 342–369. p.
253. VAVILOV N. I. (1931): The wild relatives of fruit trees of the Asian part of the USSR and Caucasus and problems of origin of fruit trees. *Trudy po prikladnoi botanike, genetike i selektsii*, 26, 343–360. p.
254. VAVILOV N. I. (1951): The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. 31–34. p. In: F. VERDOON (Szerk.): *Chronica botanica, an international collection of studies in method and history of biology and agriculture*, Vol. 13. 366 p.
255. WICHTL M., ANTON R. (1999): Plantes therapeutiques. *Tec. & Doc.*, Paris, 291–293. p.

256. WU G. L., ZHANG X.Y., ZHANG L. Y., PAN Q. H., SHEN Y. Y., ZHANG D. P. (2004):. Phloem unloading in developing walnut fruit is symplasmic in the seed pericarp, and apoplasmic in the fleshy pericarp. *Plant and Cell Physiology* 45, 1461– 1470. p.
257. WYCISLO A.P., CLARK J.R., KARCHER D.E. (2008): Fruit shape analysis of vitis using digital photography. *HortScience*, 43 (3), 677–680. p.
258. XI X.L., FANG W.L., FAN Z.Y., ZHANG X.X., HUANG Q., YANG Z.B. (2007): Breeding of new precocious walnut cultivar “Yunxin Gaoyuan”. *China Fruits* 2, 7-9. p.
259. YAM K.L., PAPA KADIS S.E. (2004): A simple digital imaging method for measuring and analysing colour of food surfaces. *Journal of Food Engineering*, 61, 137–142. p.
260. YARILGAÇ T. (1997): Studies on the breeding of walnuts (*Juglans regia* L.) by selection method in Gevaş District. Ms. Thesis. (in Turkish with English summary). Yuzuncu Yıl Univ. Van, Turkey., 2 p. cit. In: BAYRAM M. (2012): *Pomological and phonological characterization of promising walnut (Juglans regia L.) genotypes from Malatya, Turkey*. Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus 11(4) 2012, 169-178. p.
261. ZENELI G., KOLA H., DIDA M. (2005): Phenotypic variation in native walnut populations of northern Albania. *Sci. Hort.* 105 (1), 91-100. p. DOI:10.1016/j.scienta.2004.11.003
262. ZHANG M.Y., XU Y., XIANG K. (2009): Breeding of a new large nut walnut cultivar ‘Luguo 4’. *China Fruits* 3, 1-3. p.
263. ZHAO T.S, FANG W.L., FAN Z.Y., XI X.L., ZHANG Y. (2007): ‘Yunxin 90303’, a promising new early walnut selection. *Journal of Fruit Science* 24, 252-253. p.

11. MELLÉKLETEK

1. melléklet. Magyarországon nemesített diófajták fontosabb tulajdonságai (Szentiványi, 2006; Bujdosó, 2014)

Héjas szárított dió	Milotai 10	Alsószentiványi 117	Tiszacsécsi 83	Alsószentiványi kései	Milotai bőtermő	Milotai kései	Bonifác	Milotai intenzív
Tömeg (g)	13	13,7	11,5	12,6	12,2	10,8	11,4	11,0
Hosszúsága (mm)	38,6	35,9	35,8	37,4	34,8	35,8	35,8	37,2
Szélessége (mm)	34,3	33,4	31,3	34,8	35,0	30,4	30,4	30,6
Vastagsága (mm)	35,7	34,5	32,5	35,4	32,6	33,0	33,0	34,0
Héjvastagság (mm)	1,9	1,5	1,1	1,2	1,7	1,2	1,9	1,6
Bélarány (%)	48	51,7	52,4	49,5	43,7	52,0	40,4	48,0

2. melléklet. Felső-Háromszék átlagos hőmérséklet és csapadék viszonyai 2009 és 2010-ben

Hónap	Léghőmérséklet (°C)			Csapadék (mm)		
	Év		Sok évi átlag (1971-2000)	Év		Sok évi átlag (1971-2000)
	2009	2010		2009	2010	
Április	9,4	9,6	8,39	9,4	34,4	44,08
Május	13,7	14,4	13,86	87,2	152,6	68,14
Június	17,2	19,4	16,99	114,7	184,6	81,48
Július	18,8	22,0	19,00	78,3	138,2	77,01
Augusztus	18,4	20,0	18,54	38,9	118,5	64,09
Szeptember	13,9	13,3	13,36	35,5	43,4	39,86
Átlag	15,2	16,4	15,02	X	X	X
Összesen	X	X	X	364,0	671,7	374,66

Forrás: Kézdivásárhelyi Meteorológiai Állomás

3. melléklet. Marosszék átlagos hőmérséklet és csapadék viszonyai 2009 és 2010-ben

Hónap	Léghőmérséklet (°C)			Csapadék (mm)		
	Év		Sok évi átlag (1971-2000)	Év		Sok évi átlag (1971-2000)
	2010	2011		2010	2011	
Április	10,5	11,6	9,9	102,8	42,8	48,2
Május	16,0	15,5	15,2	101,8	40,2	67,5
Június	19,5	19,0	18,1	132,4	153,6	86,8
Július	21,1	20,2	19,5	74,2	98,4	82,2
Augusztus	21,1	20,1	19,0	25,8	35,2	59,1
Szeptember	14,5	17,3	14,6	48,4	2,8	48,4
Átlag	17,12	17,28	16,05	X	X	X
Összesen	X	X	X	485,40	373	392,20

Forrás: Marosvásárhelyi Meteorológiai Állomás

4. melléklet. A kerekded termésalak (*forma rotunda*) nagyságbeli változatossága

Fotó: Bandi Attila

5. melléklet. Az elliptikus termésalak (*forma elliptica*) nagyságbeli változatossága

Fotó: Bandi Attila

6. melléklet. A tojásdad termésalak (*forma ovata*) nagyságbeli változatossága

Fotó: Bandi Attila

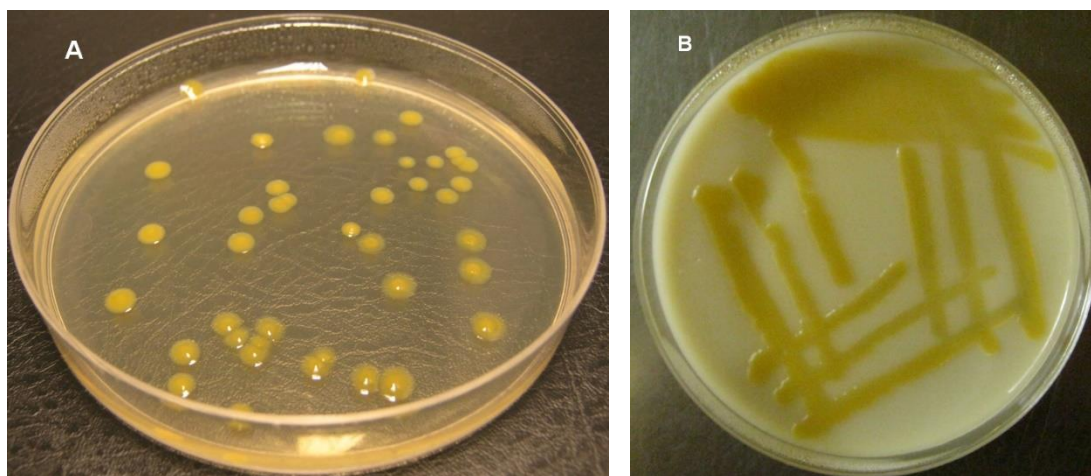
7. melléklet. A visszás tojásdad termésalak (*forma obovata*) nagyságbeli változatossága

Fotó: Bandi Attila

8. melléklet. A dió termés néhány morfológiai tulajdonságainak összefüggése

Tulajdonság	Szélesség (mm)	Vastagság (mm)	Hosszúság (mm)	Tömeg (g)	Térfogat (cm ³)
Szélesség (mm)		0,761**	0,540**	0,743**	0,846**
Vastagság (mm)			0,542**	0,816**	0,889**
Hosszúság (mm)				0,701**	0,815**
Tömeg (g)					0,872**
**: $p \leq 0,01$ valószínűségi szinten szignifikáns					

9. melléklet. B.02490 (HU) *Xaj* izolátum két napos tenyésztete (A) Nutrient- és (B) YDC agar (Yeast dextrose chalk) agar táptalajon





















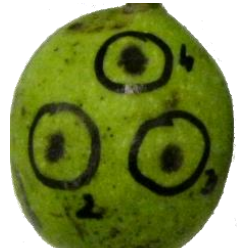


Fotó: Bandi Attila

10. melléklet. Az NCAIM génbankba elhelyezett B.02489 (RO) *Xaj* izolátum

National Collection of Agricultural and Industrial Microorganisms		Strains	Type Strains	Advanced Search	Search
		Bacteria	Bacteria	Strain	
		Yeast	Yeast	Scientist	
		Filamentous Fungi	Filamentous Fungi	Literature	
Bacteria					
<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>juglandis</i> Vauterin et al. 1995					
NCAIM number		B.02489			
Other collection number					
Strain name		Szem-10/3			
Mutant					
Strain status					
Previous name					
Type strain of					
Depositor		Sapientia - Hungarian University of Transylvania Bandi, A.			
Isolator					
Isolation source					
Isolation type					
Restriction		Hazard group 1			
Name of medium		NCAIM 0025 - Nutrient agar 28.0 C			
Notes and applications					
Literature					
Form of supply		Freeze-dried			
Back					
National Collection Of Agricultural And Industrial Microorganisms (NCAIM) H-1118, BUDAPEST, Somlói út 14-16, Hungary, Telephone/Fax: (36 1) 482 6322, Web: http://ncaim.uni-corvinus.hu					

11. melléklet. A vizsgálatba vont fajták és szelekciók fogékonysága

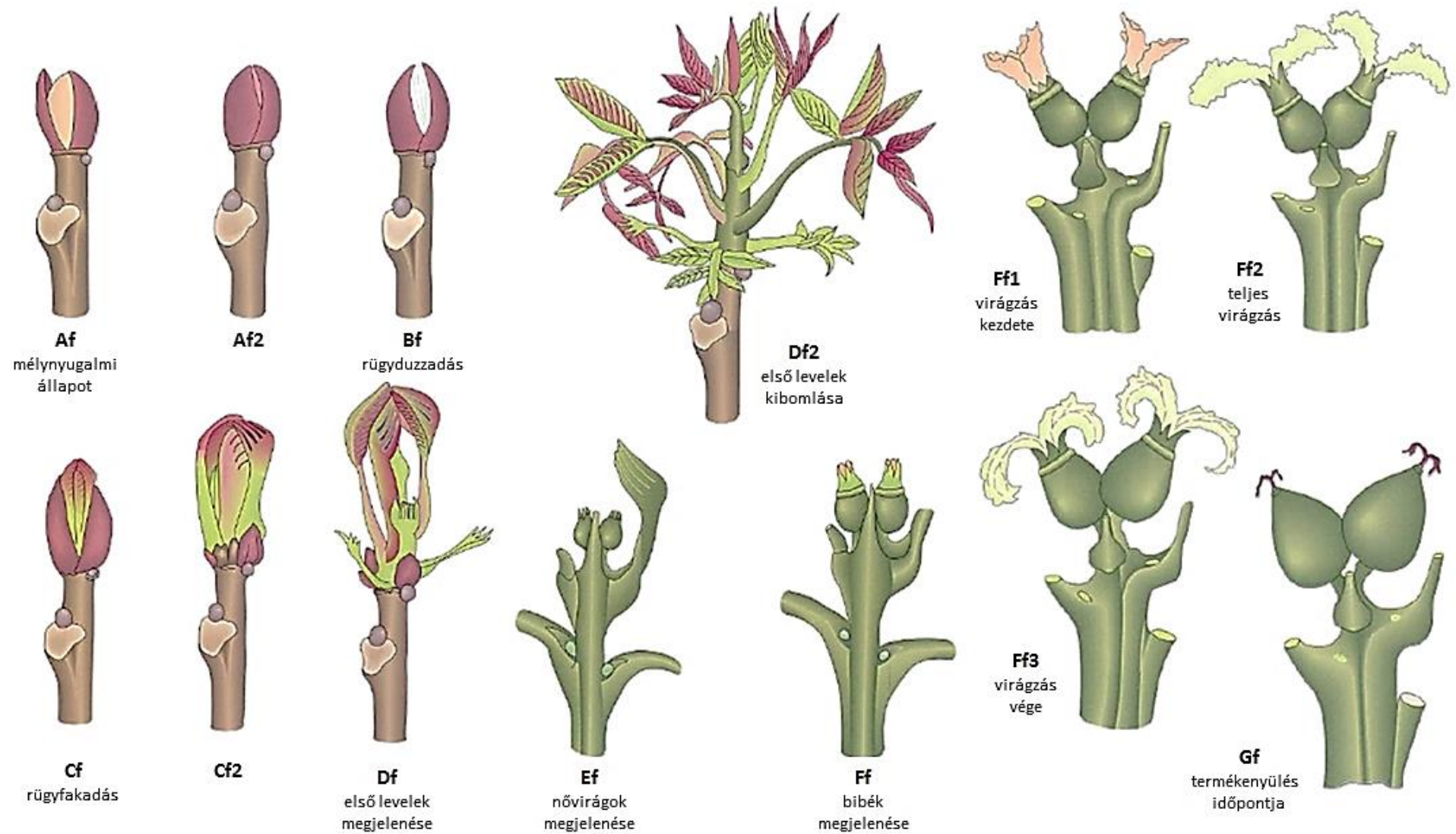
Mérsékelten rezisztens (<i>mR</i>)				
				
'Milotai kései'	'Milotai bőtermő'	'Pedro'	SOM-101	SZEN-10
				
	'Alsoszentiváni-118'	M-10-25		
Mérsékelten fogékony (<i>mS</i>)				
				
'Alsoszentiváni-117'	'Alsoszentiváni-kései'	'Bonifác'	'Hartley'	SOM-120
Fogékony (<i>S</i>)				
				
'Milotai 10'	SOM-274	FFA-11	SOM-90	
Nagyon fogékony (<i>hS</i>)				
				
'Milotai intenzív'	OZSD-37	ALB-22	SOM-50	SAR-33

12. melléklet. A dió baktériumos foltosság (*Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* (Pierce) Vauterin *et al.* okozta fejlődési rendellenesség



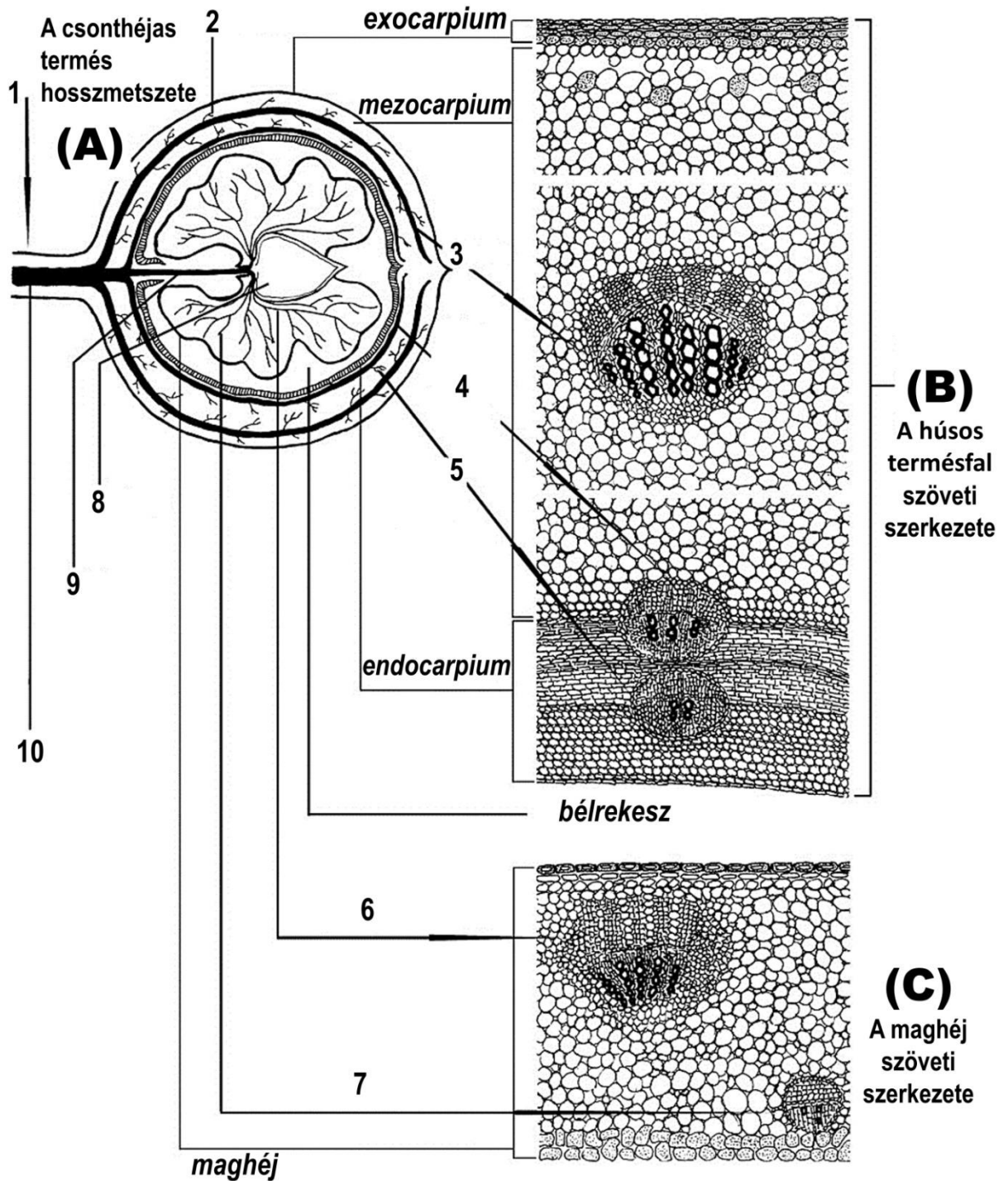
Fotó: Bandi Attila

13. melléklet. A közönséges dió fenofázisai mélynyugalmi állapotól termékenyülésig (Af - Gf)



Forrás: Germain *et al.* (1999)

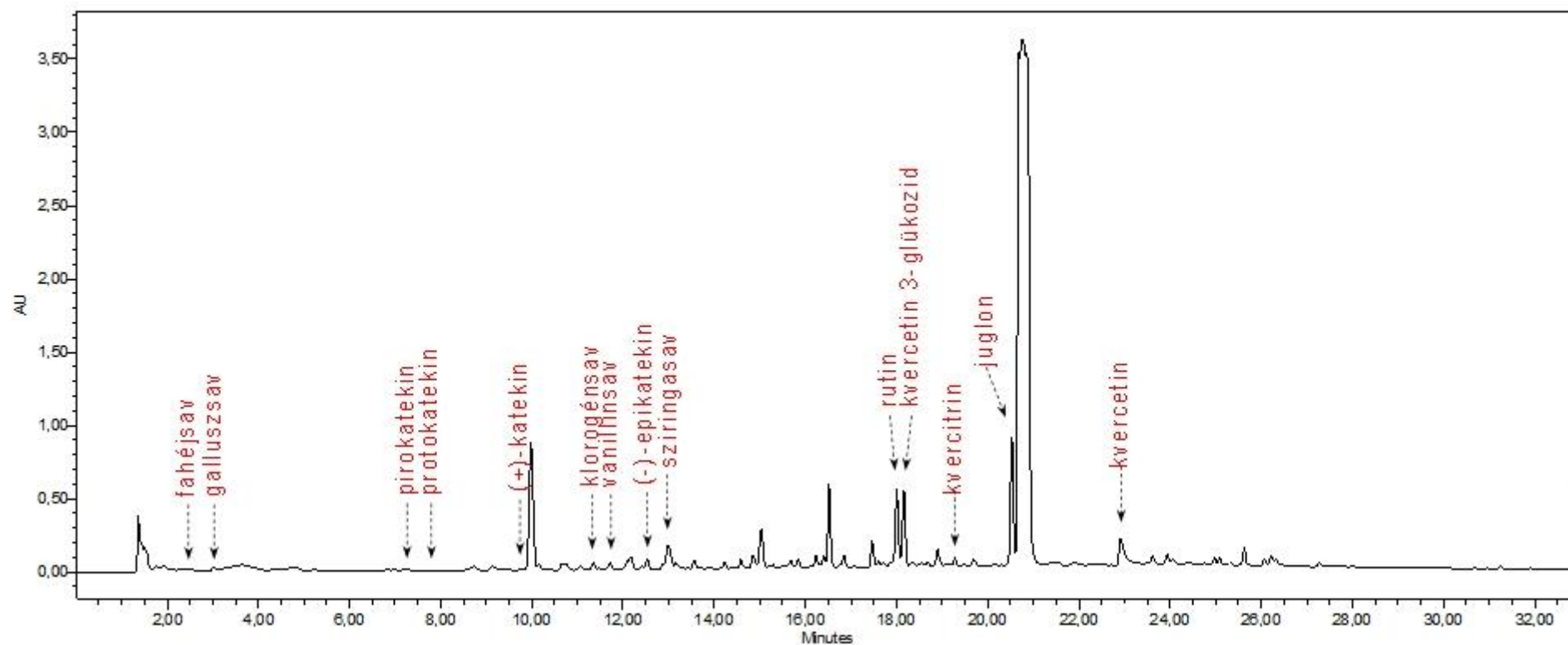
14. melléklet. A közönséges dió (*Juglans regia* L.) csonthéjas termésének szöveti szerkezete



Forrás: Wu *et al.* 2004

Magyarázat: *exocarpium*: külső termésfal, *mezocarpium*: középső termésfal, *endocarpium*: belső termésfal (csonthéj), 1: kocsány, 2: csészelevél kis edény-nyaláb, 3: csészelevél nagy edény-nyaláb, 4: termő dorzális (háti) nagy edény-nyaláb, 5: termő dorzális (háti) kis edény-nyaláb, 6: termő véntrális (hasi) kis edény-nyaláb (magháj főerezet), 7: termő véntrális (hasi) kis edény-nyaláb (magháj mellékerezet), 8: embrió, 9: termő véntrális (hasi) nagy edény-nyaláb, 10: kocsány nyaláb.

15. melléklet. Az ALB-22 szelekció éretlen fertőzött terméseinek zöldburokából vett minta (1. ismétlés) HPLC kromatogramja (280 nm) és a vizsgálatba vont fenolvegyületek csúcs alatti területei a retenciós idő szerint



Forrás: Saját ábra

12. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném kifejezni köszönetemet elsősorban témavezetőmnek **Dr. Tóth Magdolnának** a kísérletek tervezése és kivitelezése során nyújtott nélkülözhetetlen útmutatásért és segítségért. A vizsgálatok anyagi háttérének biztosítása révén külön köszönöm, hogy lehetővé tette eme kutatási munka megvalósulását.

Megkülönböztetett köszönet illeti **Dr. Hevesi Máriát** a bakteriológiai vizsgálatok és a mesterséges fertőzések kivitelezésében nyújtott segítségéért.

Köszönöm **Dr. Thiesz Rezsőnek** a szelekciós munkák kivitelezése terén adott hasznos tanácsait és segítségét. Köszönettel tartozom néhai **Dr. Kisgyörgy Zoltánnak**, aki felhívta a figyelmem a közönséges dió rendkívül gazdag alakváltozatosságára.

A vizsgálatba vont diófajták éretlen terméseinek biztosítását **Dr. Szani Zsoltnak** köszönöm. Továbbá hálával tartozom a szelekciók terméseinek áruérték vizsgálatában nyújtott segítségéért.

Köszönöm **Dr. Ficzek Gittának** a zöldburok-présnedv összes polifenol-tartalmának meghatározásában nyújtott segítségét. A fenolvegyületek HPLC mérésének kivitelezésében **Dr. Végvári Györgynek** köszönöm a szakmai koordinációját.

Ezúton szeretném megköszönni a **BCE Gyümölcsstermő Növények Tanszék** valamennyi munkatársának segítőkészségét és kedvességét.

Köszönettel tartozom **Molnár Róbert-Lóránd** és **Lázár Attila-Imre** hallgatóinknak a szelekciós tevékenységek során nyújtott szorgalmas munkájukért, akik a témához kapcsolódóan készítették el TDK és szakdolgozatukat.

Hálával tartozom feleségemnek azért a türelemért, mellyel az elmúlt évek során elviselte azt, hogy a szabadidőm jelentős részét PhD munkám elvégzésére fordítottam. Köszönöm a biztatását és folyamatos támogatását.

A kutatásokat a TÁMOP 4.2.1./B-09/01-KMR-2010-0005 pályázat támogatta.