



DOKTORI (PhD.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

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

Bandi Attila

Témavezető: Tóth Magdolna DSc

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,
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

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

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

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

1. BEVEZETÉS

A diótermesztés fejlődését nagyban elősegítik a nemesítési kutatások, olyan fajták és hibridek előállításával, amelyek megfelelők 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. A cél olyan dió genotípusok felkutatása vagy hibrid fajták előállítása, amelyek megfelelő áruértékkel, toleranciával és termelésbiztonsággal rendelkeznek, valamint az adott termőtáj 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. A KUTATÁSOK CÉLJA

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.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. Diópopulációk diverzitásának felmérése Erdélyben

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.

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, 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 magbél tömegét, majd meghatároztuk a termésfal-magbél arányt. Továbbá meghatároztuk a törés utáni magbélfrakciók részarányát, a következő csoportosítás szerint: fél, negyed, törmelék, hibás.

A diópopulációk *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* fogékonyságának szabadföldön történő értékelését Felső-Háromszék vidékén 2009-ben és 2010-ben, valamint Maros-, Nyárad-, Kis-Küküllő mentén 2010-ben és 2011-ben Hunter és Roberts (1978) módszere alapján mértük fel évente július hónapokban, 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.

3.2. Xantomonaszra való fogékonyág vizsgálata mesterséges inokuláció alapján

2010-től 2013-ig végzett vizsgálatok során Magyarországon nemesített állami elismerésben részesített diófajták és Erdélyben szelektált diótípusok fogékonyágának mértékét értékeltük a 'Pedro' mérsékelt rezisztens (mR) és a 'Milotai intenzív' nagyon fogékony (hS) kontroll fajtákkal való összehasonlításban. A termésmintákat az *endocarpium* megszilárdulása előtt, júniusban gyűjtöttük be Pölöskéről, a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉbiH) Fajtakísérleti Állomásáról és Erdélyből.

A mesterséges fertőzésekhez használt izolátumokat Magyarország és Erdély különböző diótermesztő helyeiről gyűjtöttük. A kórokozó azonosítását morfológiai, biokémiai és fiziológiai tulajdonságai alapján végeztük, a patogenitási teszteket a BCE Gyümölcsstermő Növények Tanszék akkreditált Erwinia laboratóriumában végeztük. Összesen 61 *Xaj* izolátumot vizsgáltunk. Ezek jellegzetes tenyészbélyegeik (sárga pigment termelés, sima, nyálkás, domború kolónia típus, 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>).

3.3. 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.

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 20 NE dehidratált szubsztrátokat

tartalmazó 20 mikrocsőből áll. 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.

Az izolátumok rézrezisztencia vizsgálatát *agardiffúziós lyukteszt* módszerrel ellenőriztük 0,15%, 0,25%, 0,35%-os rézhidroxid hatóanyag-tartalmú növényvédőszer oldatát pipetázva a 10 mm átmérőjű lyukakba.

3.4. Baktériumsejt-szuszpenzió előállítása és inokuláció

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 fogékonysági vizsgálatokat Özaktan *et al.* (2008) módszere alapján végeztük. A vizsgálathoz 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 cm² nagyságú inokulációs terület beinjekciójásával végeztük, 20 µl szuszpenziót bejuttatva szűrőhelyenként. Ezáltal fajtánként/szelekciónként 100 db inokulált terület (20 termés x 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 °C) biztosítása céljából.

3.5. A termések *Xaj* fogékonyságának felmérése

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.* (2008) által kidolgozott ötfokozatú skála segítségével megkaptuk a fertőzési indexet. 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;

3.6. A fertőzés élettani hatásának vizsgálata

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

Mintaelőkészítés a fenolvegyületek HPLC-s meghatározásához

A fertőzés hatására bekövetkező biotikus stressz-válasz követésére az inokulációs pont körül a zöldburok szöveteiből (*exocarpium* és *mezocarpium*) dugófúróval (10 mm \emptyset) mintát vettünk 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.

A vizsgált fenolvegyületek analitikai HPLC tisztaságú standardjait mint fahéjsav [140-10-3], galluszsav [149-91-7], pirokatekin [120-80-9], protokatekin [99-50-3], (+)-katekin [154-23-4], klorogénsav [327-97-9], vanilinsav [121-34-6], (-)-epikatekin [490-46-0], sziringasav [530-57-4], rutin [153-18-4], kvercetin 3-

glükózid [482-35-9], kvercitrin [522-12-3], juglon [481-39-0] és a kvercetin [117-39-5] a Sigma Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) vásároltuk.

Az eluens készítés során HPLC tisztaságú methanolt CAS [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. A méréseket a BCE Gyümölcsstermő Növények Tanszék HPLC laboratóriumában lévő berendezéssel végeztük Dr. Végvári György irányításával.

3.7. Fenolvegyületek közvetlen antibakteriális hatásának *in vitro* vizsgálati módszere

A vizsgálatba vont fenol vegyületekből (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 3ml 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. 3×10^8 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. 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.

A színkoordináták 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 határoztuk meg. A mérési adatokat a készülékek memóriájából RS232 soros porton keresztül számítógépre töltöttük le.

A fenolvegyületek antibakteriális hatását a baktériumsejtek visszaizolálásával is követtük. Az inokuláció után fenol vegyületenként 0 óra, 10 perc, 1 óra, 4 óra és 24 óra múlva tízes lépték szerint hígítási sort készítettünk. A hígításokból 100 µl-t King-B agarra felcseppentettük, majd steril szélesztő üvegbot segítségével egyenletesen szélesztettük. A mintákat 27±1 C°-on 48 órát inkubáltuk, majd a kifejlődött kolóniákat megszámláltuk.

3.8. 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 módszer lyukteszt* alkalmazásával. A zöldburok korongokat dugófúróval (Ø=10mm) a fertőzési hely körüli burokreszből 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.

Összes polifenol-tartalom meghatározása

Az összes polifenol-tartalmat galluszsavra (GS) vonatkoztatva határoztuk meg Singleton és Rossi (1965) spektrofotometriás módszerével a Gyümölcsstermő Növények Tanszék Gyümölcsanalitikai laboratóriumában Dr. Ficzek Gitta irányításával. A mért abszorbanciából a kalibrációs görbe segítségével számoltuk ki az összes polifenol-tartalmat a kalibrációs görbe egyenlete ($A = a \times c_{minta} + b$) alapján.

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

A= 765 nm-es hullámhosszon mért abszorbancia érték

a, b = a kalibrációs görbe paraméterei

4. EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

4.1. Erdélyi diópopulációk diverzitása a termésmorfológiai és a *Xaj* betegségre való fogékonyságuk alapján

A dió gazdag helyi populációval rendelkezik Felső-Háromszéken, a Maros, a Nyárád 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 vizsgálatok alapján.

A dió áruértéke szempontjából az Erdélyben kiválasztott típusok terméstömege 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 terméstömege keskenyebb intervallumba sorolható (10,8–13,7 g). Szentiványi (2006) adatai alapján viszonylag kisebb terméstömeg jellemzi a következő fajtákat: ‘Milotai kései’, ‘Milotai intenzív’, ‘Bonifác’ és ‘Tiszacsécsi 83’. Terméstömegük nem éri el a 12 grammot. Az ‘Alsószentiváni 117’, ‘Milotai 10’, ‘Alsószentiváni kései’ és a ‘Milotai bőtermő’ terméstömege 12 és 14 g közötti. Az erdélyi szelekciókat a SOM-120 kivételével 12 g fölötti terméstömeg jellemzi. Kiemelkedően magas e tekintetben a SZEN-10, átlagos terméstömege 16,70 g.

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 Gyümölcsstermesztési 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).

Az 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.

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

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 visszástojásdad (*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.

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. 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 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.

4.2. Az izolátumok biokémiai, fiziológiai reakcióinak értékelése

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 termeszthetők. 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.

4.3. Diófajták és szelekciók xantomonasz fogékonyága

Az évenkénti mérések adatai alapján megállapítható, hogy a vizsgált fajták többsége mérsékelten fogékony, illetve fogékony. A Magyarországon nemesített fajták közül alacsony mértékű fogékonytságot a 'Milotai kései', az 'Alsószentiváni 118', M-10-25, 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 fogékonytságot állapítottunk meg. A fogékony kontrollként kísérletbe vont 'Milotai intenzív' harmadik legfogékonyabbnak bizonyult a három vizsgálati év adatai alapján. Hozzá hasonló nagyon fogékonynak értékelhető fajták az ALB-22, OZSD-37, SOM-274, SAR-33. A fertőzöttség mértéke (F_m) szerint számos fajtánál a vizsgálati évek eredményei között nagy eltéréseket tapasztaltunk. Ennek alapján az 'Alsószentiváni 118' és a 'Milotai kései' fogékonytságának tisztázása érdekében további vizsgálatok szükségesek.

E vizsgálatok eredményei adatokat szolgáltathatnak a *Xaj* baktérium által kiváltható károk mérsékléséhez azáltal, hogy a fajták fogékonyágáról megfelelő eredményekkel rendelkezünk.

4.4. A dió védelmi mechanizmusában részt vevő fenolvegyületek szerepe

Eredményei alapján kijelenthetjük, hogy nagyfokú változatosságot mutattak a vizsgált diófajták a különböző fenolvegyületek természetes aktivitását illetően. A termékenyülést követően 45 nappal (Gf+45) 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.

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. 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. 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.

Solar *et al.* (2007) szerint a fenolvegyület magas koncentrációja nem mindig párosul antibakteriális hatással. Eredményeink alapján a flavanolak 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 antibakteriális hatásuk nem igazolódott.

Egy későbbi kísérletükben Solar *et al.* (2009) azt találták, hogy a fertőzés hatására ugyancsak emelkedett a (+)-katekin, valamint a klorogénsav és a rutin szintézise. Vizsgálataink során 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 különböző fogékonyságú fajták zöldburok-présnedvének antibakteriális hatását agar diffúziós lyukteszt módszerrel vizsgálva, arra a következtetésre jutottunk, hogy a magasabb összes 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.

5. 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 termesztőtájakon fellelhető magonc dióállományok esetében a termés morfológiai jellemzők és a baktériumos betegségekre való fogékonyság nagyfokú variabilitásának igazolása.
2. Termés morfológiai jellemzők és a *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* baktériummal szembeni ellenállóság alapján két perspektivikus genotípus (SZEN-10, SOM-101) kiemelése és leszaporítása 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 ellenálló-képesség 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.

IDÉZETT IRODALMAK

1. 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
2. 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
3. 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*. APS Press, St-Paul, Minnesota, 319. p.
4. BUJDOSÓ G. (2006): Hazai diófajták áruértéke. 54-58. p. In: SZENTIVÁNYI P., KÁLLAY T.-NÉ (Szerk.): *Dió*. Budapest, Mezőgazda Kiadó, 204 p.
5. 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.
6. G. TÓTH M. (2004): Dió. 321-334. p. In: PAPP JÁNOS (Szerk): *A gyümölcsök termesztése*. Mezőgazda Kiadó, Budapest. 553. p.
7. HUNTER R.E., ROBERTS D.D. (1978): A disease grading system for pecan scab. *Pecan Quarterly* 12(3), 3-6. p.
8. 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
9. 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
10. ÖZAKTAN H., ERDAL M., AKKOPRU A., ASLAN E. (2008): 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

11. 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
12. SINGLETON V. L., ROSSI J. A. (1965): Colometry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid "reagents". *Am. J. Enol. Vitic.*, 16, 144–158. p.
13. SOLAR A., DREO T., MICULIC-POTROVSEJ M., LIZOCAR A., SUSTARSIC M., VEBERIC R., MATICIC L., RAVNICAR 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/ASolarWalnutPhenolicsItaly.pdf>
14. 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/uploads/files/mSolarmurcia.pdf>
15. SZENTIVÁNYI P. (1976): Dió. 9 – 83. p. In: SZENTIVÁNYI P., PEJOVICS B., HORN E. (Szerk.): *Dió, Mandula, Mogyoró, Gesztenye*. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 342. p.
16. SZENTIVÁNYI P. (2006): Az Országos Mezőgazdasági Minősítő Intézet által elfogadott, államilag elismert árúfajták. 62 – 65. p. In: SZENTIVÁNYI P., KÁLLAY T- NÉ: *Dió*. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 204. p.

Az értekezés témakörében megjelent publikációk jegyzéke

IF-es folyóiratcikk:

1. Thiesz R., **Bandi A.**, Tóth M., Balog A. (2009): Evaluation of an isolated Persian walnut (*Juglans regia* L.) population from Eastern Transylvania, Romania. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 6 (3-4). pp. 132-136. IF: 0,517

NEM IF-es folyóiratcikk:

1. **Bandi A.**, Hevesi M., Szani Zs., Tóth M. (2015): Assessment of bacterial blight tolerance in Persian walnut based on immature nut test. *Notulae Scientiae Biologicae* 7(2). pp. 253-257. (ISI Thomson Master Journal List, BIOSIS Previews, CAB Abstracts, index Copernicus)
2. **Bandi A.**, Tóth M., Hevesi M. (2014): Comparison of *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* isolates from walnut trees grown in Romania and Hungary. *International Journal of Horticultural Science* 20 (1-2). pp. 65-69. (BIOSIS Previews, CAB Abstracts)
3. 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). pp. 7-11. (BIOSIS Previews, CAB Abstracts).

Konferencia kiadványok

Magyar nyelvű (full paper):

1. **Bandi A.**, Thiesz R., Daczó L.(2007): Felső - Háromszék diópopulációjából tájfajta- szelekcióval kiválogatott genotípusok növénytani és gazdasági értékelése. *Erdélyi Múzeum Egyesület Múzeumi Füzetek, Acta Scientiarum Transylvanica Agronomia*, 15/2, pp. 55-67, Published by the Transylvanian Museum Society, Kolozsvár/Cluj

Magyar nyelvű (abstract):

1. **Bandi A.**, Hevesi M., Thiesz R., Tóth M. (2012): Erdélyből származó diószelekciók fogékonyságának megállapítása a *Xanthomonas arboricola*

pv. *juglandis* baktériummal szemben. Növényvédelmi Tudományos Napok, Magyar Tudományos Akadémia, Budapest, Növénykórtani szekció.

2. **Bandi A.**, Tóth M., Thiesz R., Hevesi M. (2012): Magyarországi diófajták és erdélyi szelekciók baktériumos foltosság betegséggel szembeni ellenállóságának vizsgálata. Kihívások és megoldások a XXI. század élelmiszertudományában TÁMOP- 4.2.1/B-09/1/KMR-2010-0005 záró konferencia. 2012. január 18- 19.

Nemzetközi konferencia (full paper):

1. **Bandi A.**, Tóth M., Hevesi M., Thiesz R. (2010): Walnut selections susceptibility to *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*. Preliminary results. University of Agronomical Sciences and Veterinary Medicine, Scientifical Papers 54: 22-30. pp. 366-371., ISSN 1222-5312, index BDI-CABI
2. Thiesz R., Balog A., Kentelky E., **Bandi A.** (2007): Studies of physical characteristics on natural population of walnut (*Juglans regia* L.) fruits in Eastern Transylvania. In: "Agricultura durabilă – Agricultura viitorului" Ediția a III-a. pp. 362-369. ISSN 1841-8317

Nemzetközi konferencia (abstract):

1. Molnár R. L., Thiesz R., **Bandi A.** (2015): Evaluation of promising walnut genotypes (*Juglans regia* L.) from the region of Eastern and Middle Transylvania. In: 3. Transylvanian Horticulture and Landscape Studies Conference, Tîrgu Mureș (Marosvásárhely). p. 18.
2. **Bandi A.**, Hevesi M., Thiesz R., Tóth M. (2010): Susceptibility to *X. arboricola* pv. *juglandis* of walnut elites selected from the natural population in Transylvania. In: 1. Transylvanian Horticulture and Landscape Studies Conference, Tîrgu Mureș (Marosvásárhely). p. 12.
3. **Bandi A.**, Szani Zs., Thiesz R., Bujdosó G., Tóth, M. (2010): Variability of Persian walnut (*Juglans regia* L.) fruit phenotype of the Carpathian Basin. In: 1. Transylvanian Horticulture and Landscape Studies Conference, Tîrgu Mureș (Marosvásárhely). p. 13.