



Doktori értekezés (PhD) tézisei

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

Hudák Ildikó

Témavezető: Dr. Tóth Magdolna, DSc

Társkonzulens: Dr. Hevesi Mária, CSc

Budapesti Corvinus Egyetem
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

Budapest
2014

A doktori iskola
megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola

tudományága: Növénytermesztési és Kertészeti Tudományok

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

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

Társkonzulens: Dr. Hevesi Mária
ny. tudományos főmunkatárs, CSc.
Budapesti Corvinus Egyetem,
Kertészettudományi Kar,
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

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

Dr. Tóth Magdolna
Az iskolavezető jóváhagyása

Dr. Tóth Magdolna
A témavezető jóváhagyása

1. BEVEZETÉS

Biotikus stresszhatások közül hazánkban az utóbbi években jelentős termésveszteségeket idéztek elő a különböző baktériumos betegségek, így az *Erwinia* fajok okozta elváltozások is.

A különböző *Erwinia* fajok egymástól teljesen eltérő betegségi tüneteket váltanak ki. A burgonyát károsító baktériumfajok: *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (syn. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*), valamint a *Dickeya dadantii* (syn. *Erwinia chrysanthemi*) ún. lágyrothadást okoznak. Ezzel szemben az *Erwinia amylovora* hajtáselhalást, rákosodást idéz elő.

Földrajzi elterjedésük igen széles körű, ezáltal komoly gazdasági károkat okozhatnak szerte a világon. Az ellenük való védekezés a mai napig nem megoldott. Megoldást jelenthetne az ellenálló fajták bevonása a termesztésbe.

Az *in vitro* fertőzések hatására bekövetkező biokémiai változásokról szóló szakirodalomban sokszor eltérő eredményeket közölnek. Ezért tartottuk fontos feladatunknak a biotikus stressz hatására létrejövő gazdaválasz nyomonkövetését biokémiai markerekkel. Azt szeretnénk tisztázni, hogy az eltérő betegségi típusokra azonosan vagy eltérően reagálnak a növények. Mivel a biokémiai változásokat csak azonos körülmények között tartott növényeken lehet követni, ezért volt szükség az *in vitro* előállított növényekre.

2. A KUTATÁSOK CÉLJA

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

Munkám során az alábbi konkrét feladatok megoldását tűztem ki célul:

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

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. Felhasznált baktériumfajok

A kísérleteinkben a *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (*Pcc*), a *Dickeya dadantii* (*Dd*) és az *Erwinia amylovora* (*Ea*) virulens törzseinek 10^8 sejt/ml töménységű baktériumszuszpenzióját használtuk fel.

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

A mikroszaporított kísérleti növényanyagokat a Debreceni Egyetem ATK Nyíregyházi Kutatóintézetének Biotechnológiai Laboratóriumában állítottuk elő. Összesen 13 burgonya genotípust (77365/103, 98/91, 136/92, 36/92, 34/85, 736/82, 1469/83, 77399/514, ‘Desiree’, ‘Réka’, ‘Cleopátra’, ‘Rachel’ és a ‘Boró’), valamint hét almafajtát (‘Red Fuji’, ‘Freedom’, ‘Húsvéti rozmaring’, ‘Jonagold’, ‘Hesztia’, ‘Idared’ és ‘Tenroy’ (Royal Gala)) vizsgáltunk.

3.3. A fertőzések és tünetértékelések vizsgálati módszerei

A burgonya (növény és gumó) *in vitro* fertőzési módszerét önállóan dolgoztuk ki. Az *in vivo* burgonyafertőzések Vlasov és Pereverzev módszerével (1989) történtek. Az almahajtások *in vitro* hajtásfertőzését pedig Hevesi *et al.* (2000) által kidolgozott módszer alapján végeztük el.

Burgonyafajták *in vitro* hajtásfertőzéséhez három hetes *in vitro* burgonyanövényeket használtunk.

A fertőzést követő hetedik napon értékeltük a szár- és levéltüneteket, melynek értéke alapján fertőzési indexet (F_i) számoltunk és meghatároztuk, hogy az adott burgonyafajta milyen fogékonysági csoportba sorolható: rezisztens, mérsékelten rezisztens, mérsékelten fogékony, fogékony vagy erősen fogékony az adott baktériummal szemben.

Fertőzési index (F_i) számítása az alábbi képlettel történt:

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

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

ΣN : összes megfigyelt növény

Baktérium sejtszám meghatározásához három helyről vettünk mintát. Az inokuláció helyéről (SZ), az e feletti szárrészből (F) és az ez alatti szárrészből (A) 1-1cm-t. Egy mintákhoz genotípusonként 3 db 1 cm hosszú hajtásdarabokat használtuk fel. A mintákat 48 h-ig 26 °C-on inkubáltuk, majd a kifejlődött kolóniákat megszámláltuk.

Burgonya mikrogumó fertőzéshez a gumókat baktériumszuszpenzióba mártott steril injekcióstűvel megszártuk, majd Petri csészébe, nedves szűrőpapírra helyeztük.

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

Primer burgonyagumó fertőzésénél burgonyakorongokat használtunk, melynek fertőzés előtt lemértük a tömegét. A fertőzést követően a korongokat Petri csészékbe helyezve inkubátorba raktuk 26 °C-ra 24-26 órára. Másnap az elrothadt növényi részt lemostuk és az egészséges növényi szövet tömegét visszamértük. A fogékonyság mértékének alapja az a tömegkülönbség, mely a burgonyakorongok tömegének az inokuláció előtti és utáni méréseiből adódtak. Eredményeinket az egészséges szövet tömegének arányában %-ban fejeztük ki.

Mikroszaporított almafajták hajtásfertőzése baktériumszuszpenzióba mártott ollóval, felülről számított második kifejlett levelek bevágásával történtek.

In vitro almanövények fogékonyságát a fertőzést követő második, ötödik és nyolcadik napon értékeltük. A betegség mértékét a bevágott levél, a tovább fertőződött levelek, levélerek és a hajtás elbarnulásának mértéke alapján értékeltük.

3.4. Biokémiai vizsgálatok anyaga és módszerei

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

Pectobacterium carotovorum subsp. *carotovorum* esetén: 77365/103 (rezisztens), 36/92 (mérsékelten fogékony), 98/91 (erősen fogékony).

Dickeya dadantii esetén: 34/85 (rezisztens), 'Réka' (mérsékelten fogékony), 'Boró' (erősen fogékony).

Erwinia amylovora esetén: 'Freedom' (rezisztens), 'Húsvéti rozsmaring' (mérsékelten fogékony), 'Tenroy' (erősen fogékony).

A peroxidáz (POD) enzimaktivitás meghatározása a Budapesti Corvinus Egyetem Alkalmazott Kémia Tanszékén végeztük. Shannon *et al.* (1966) spektrofotometriás módszere alapján mértük a POD aktivitást, H₂O₂, mint szubsztrát és ortodianizidin, mint kromogén reagens ($\epsilon=11,3$) jelenlétében. Az abszorbancia növekedését 460 nm-n mértük. Az enzimaktivitást U/mg egységben adtuk meg friss súlyra vonatkoztatva.

A szénhidráttartalom meghatározását BCE Gyümölcsstermő Növények Tanszék HPLC laboratóriumában végeztük.

A vizsgálataink során kapott adatok **statisztikai kiértékelését** egytényezős varianciaanalízissel végeztük SPSS 13.0 for Windows programcsomag segítségével. A homogén csoportok képzése Tukey-teszttel történt.

4. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

4.1. Burgonya genotípusok fogékonysága

A burgonya *in vitro* hajtásfertőzésekor az utolsó megfigyelési napon (fertőzést követő hetedik nap) kapott eredményeket figyelembe véve a következő megállapításokat tehetjük. A *Pcc* fertőzés hatására öt fogékonysági csoportot tudunk elkülöníteni, míg *Dd*-val szemben csak négy csoportba soroltuk a vizsgált genotípusokat, melyek közül a legtöbb a közepes kategóriákat (mérsékelten rezisztens és mérsékelten fogékony) képviselte (1. táblázat).

1. táblázat. *In vitro* burgonyanövények hajtásainak fogékonysága *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* és a *Dickeya dadantii* fertőzést követően.

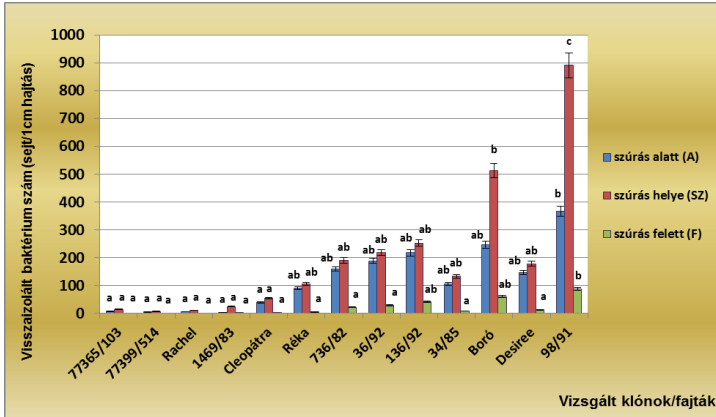
Fogékonysági csoportok	<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	<i>Dickeya dadantii</i>
rezisztens	77365/103 és a 'Rachel'	34/85
mérsékelten rezisztens	77399/514, a 'Réka' és a 'Cleopátra'	1469/83, 77399/514, 'Cleopátra', 'Rachel'
mérsékelten fogékony	'Desiree', 1469/83 és a 36/92	77365/103, 36/92, 98/91, 736/82, 'Desiree' és a 'Réka'
fogékony	136/92 és a 736/82	
erősen fogékony	'Boró', 34/85 és a 98/91	'Boró' és a 136/92

A *Pcc*-val szemben rezisztensnek mutatkozott a 77365/103 és a 'Rachel', legfogékonyabbak közé pedig a 'Boró', 34/85 és a 98/91 tartozott. A *Dd* fertőzés hatására az utolsó megfigyelési időpontban a legellenállóbb a 34/85 klón volt, mely egyedül alkotta a rezisztensek csoportját. Erősen fogékony a 'Boró' és a 136/92 volt.

Összehasonlítva az *in vitro* burgonyanövények fogékonyágát, megállapíthatjuk, hogy az *Pcc* agresszívabb baktériumfaj, súlyosabb tüneteket idézett elő az *in vitro* növényeken, mint az *Dd*. Hasonló reakciót mutattak mindkét baktériumfajjal szemben a következő genotípusok: 77399/514 és a 'Cleopátra' mérsékelten rezisztens; 36/92 és a 'Desiree' mérsékelten fogékony; 'Boró' erősen fogékony.

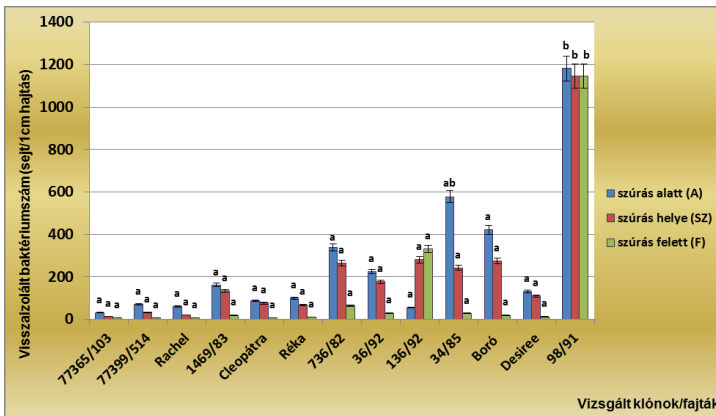
A *Pcc*-val történő fertőzést követően a **baktérium sejtszám meghatározását** a fertőzött növényi szövetekből visszaizolálások alapján végeztük. Két időpontban történt a visszaizolálás: a fertőzést követő harmadik és hetedik napon a megfigyelési időpontokkal párhuzamosan.

A fertőzést követő harmadik napon történő visszaizolálás esetében valamennyi vizsgált genotípusnál a szűrés környéki részből (SZ) sikerült a legtöbb baktériumot kitenyészteni (1. ábra). A fajták közötti eltéréseket tekintve elmondható, hogy mindhárom mintavételi helyen kiugróan magas baktérium sejtszámot kaptunk a 98/91 esetében, ami összhangban volt a hajtásfertőződés eredményeivel.



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

A fertőzést követő hetedik napon történő visszaizoláláskor kapott eredmények szerint a baktérium sejtszám a szűrés alatti (A) mintavételi helyeken a legmagasabb (2. ábra).



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

A *Dd* visszaizolálási eredményei annyiban tértek el a *Pcc* eredményeitől, hogy a fertőzést követő harmadik és hetedik napos visszaizolálásnál is a szűrés helyéről (SZ) vett mintákból sikerült a legtöbb baktériumot visszaizolálni, de ezzel párhuzamosan a hetedik napos visszaizoláláskor a szűrés alatti (A) mintákban is megnőtt a baktérium sejtszám. Mindebből arra következtethetünk, hogy a fertőzés a szárban lefelé terjed. Úgy tűnik, hogy az *Dd* lassabban szaporodik és terjed a hajtásban, mint az *Pcc*. Ez lehet az oka, hogy a *Dd* nem okozott olyan súlyos tüneteket az *in vitro* burgonyahajtásokon, mint a *Pcc*.

Burgonya mikrogumók fertőzésekor az utolsó megfigyelési időpontban (fertőzést követő hetedik nap) kapott eredmények szerint a következő fogékonysági csoportokat tudtuk kialakítani (2. táblázat).

2. táblázat. *In vitro* burgonyagumók fogékonysága *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* és a *Dickeya dadantii* fertőzést követően.

Fogékonysági csoportok	<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	<i>Dickeya dadantii</i>
rezisztens	‘Rachel’	77399/514
mérsékelten rezisztens		136/92, 34/85, 1469/83, 36/92, 736/82, ‘Réka’
mérsékelten fogékony	34/85, 1469/83, 36/92, 77399/514, 136/92, 736/82, 77365/103, ‘Réka’, ‘Cleopátra’, ‘Desiree’ és a ‘Boró’	77365/103, 98/91, ‘Cleopátra’, ‘Desiree’ és a ‘Rachel’
erősen fogékony	98/91	‘Boró’

Összehasonlítva a két baktériumfajt elmondható, hogy a *Pcc*-val szemben ellenállóbbnak mutakozó ‘Rachel’ az *Dd*-val szemben mérsékeltén fogékony volt, míg a 98/91 a *Pcc*-val szemben erős fogékonyságot mutatott, addig a *Dd*-val szemben a közepes fogékonyságúak csoportjába soroltuk. Az *Dd*-val szemben rezisztens 77399/514 és a legfogékonyabb ‘Boró’ az *Pcc*-val szemben mérsékelt fogékonysággal bírt.

Primer burgonyagumók fogékonyságát (Vlaslov és Pereverzev, 1989) vizsgálva az eredményeinket a 3. táblázat foglalja össze.

3. táblázat. Üvegházi burgonyagumók fogékonysága a *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* és a *Dickeya dadantii*val történő fertőzési kísérletének eredményei alapján.

Fogékonysági csoportok	<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	<i>Dickeya dadantii</i>
rezisztens	136/92, 77399/514, ‘Boró’, és a ‘Cleopátra’	‘Desiree’, ‘Boró’, 136/92 és a 77399/514
mérsékeltén rezisztens	98/91, ‘Desiree’ és a ‘Rachel’	736/82, 98/91, 77365/103 és a ‘Rachel’
mérsékeltén fogékony	34/85, 77365/103 és a 736/82	‘Réka’, 36/92 és a 34/85
fogékony	36/92 és a 1469/83	1469/83
erősen fogékony	‘Réka’	‘Cleopátra’

Ha a módszeren belül a két kórokozót hasonlítom össze, akkor elmondható, hogy ‘Boró’, a 136/92 és a 77399/514 mindkét baktériumfajjal szemben rezisztensnek bizonyult. A ‘Réka’ és a 1469/83 mindkét baktériummal szemben fogékony volt.

Összehasonlítva a módszerek végeredményeit elmondhatjuk, hogy vannak közöttük eltérések és hasonlóságok. Mivel a betegség a száron jelenik meg először, ha ott ellenállóbb egy fajta, akkor valószínű, hogy a gumófertőzés sem jön létre. Ezért a három módszer közül az *in vitro* hajtásfertőzés módszere volt az, amit leginkább alkalmasnak találtunk arra, hogy egy fajta fogékonyságát leteszteljük.

4.2. Almafajták fogékonysága

A második megfigyelési időpontban (fertőzést követő ötödik nap) tapasztaltakat a 4. táblázat mutatja be.

4. táblázat. *In vitro* almahajtások fogékonysága az *Erwinia amylovora* fertőzést követő ötödik napon.

Fogékonysági csoportok	<i>Erwinia amylovora</i>
rezisztens	‘Red Fuji’ és a ‘Freedom’
mérsékelten rezisztens	‘Hesztia’
mérsékelten fogékony	‘Idared’, ‘Húsvéti rozsmaring’ és a ‘Jonagold’
erősen fogékony	‘Tenroy’ (Royal Gala)

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

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

A Wisconsin Egyetemen McManus és Heimann (1997) által végzett vizsgálataik szerint a ‘Freedom’ rezisztensnek, míg a ‘Tenroy’, ‘Idared’ és ‘Jonagold’ fajtákat erősen fogékonyak találták. Ezt az eredményt a mi vizsgálataink részben alátámasztják. A ‘Hesztia’ egyike a Tóth Magdolna (2012) által nemesített, államilag elismert multirezisztens fajtának, mely a mi vizsgálatainkban a tűzelhalással szemben mérsékelten rezisztensnek mutatkozott.

A mikroszaporított és a kifejlett növények eltérő fogékonysága valószínűleg a hajtások eltérő szöveti szerkezetére vezethető vissza. Az *in vitro* növények hisztológiai jellemzői nem egyeznek meg a szabadföldön vagy üvegházban nevelt növényekével (Jámbor-Benczúr *et al.*, 2001).

4.3. Biokémiai vizsgálatok eredményei

Előkísérleteket végeztem annak kiderítésére, hogy a mikroszaporított burgonya és alma esetében a különböző fertőzések által okozott stressz nyomon követhető-e a peroxidáz enzimaktivitás és a szénhidráttartalom mérésekkel. Három eltérő fogékonyságú genotípust (rezisztens, mérsékelten fogékony és erősen fogékony) vizsgáltunk mindhárom baktériumfaj esetében. A burgonyát károsító baktériumfajok hatását a fertőzést követő első 24 óra különböző időpontjaiban (0, 3, 6 és 24 óra) vizsgáltuk. Az alma esetében a fertőzést követő 120 óráig tartott a megfigyelés, öt időpontban (0, 6, 24, 72 és 120 óra) mértük az enzimaktivitás és szénhidráttartalom értékeit. Minden esetben a fertőzést követő azonnali mintavételt (0 órás) tekintettük kontrollnak.

Az enzimaktivitással (POD) kapcsolatos eredményeket az 5. táblázat foglalja össze.

5. táblázat. Az eltérő baktériumfajok fertőzésének hatása a peroxidáz enzimaktivitás változására

Megfigyelési szempont	<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	<i>Dickeya dadantii</i>	<i>Erwinia amylovora</i>
Kiindulási POD értékek	R>EF	R>EF	R>EF
Mikor következik be változás a fertőzést követően	0-6 h ↓ 6-24 h ↑	0-24 h ↑	0-24 h ↓ 24-120 h ↑
A változás tartós vagy kiegyenlítődik	KIEGYENLÍTŐDIK	TARTÓS	KIEGYENLÍTŐDIK

Az eltérő fogékonyágú klónok között különbségek vannak a kiindulási POD aktivitásukat tekintve. A rezisztens genotípusokban mind a burgonya, mind az alma esetében magasabb POD értékeket mértünk, mint az erősen fogékonyakban. A fertőzés hatására változik a POD aktivitás a növényekben, mégpedig úgy, hogy a *Pcc* hatására a fertőzést követő hatodik órában jelentősen lecsökken és ezt követően emelkedni kezd. A fertőzés hatására bekövetkező változás nem tartós, kiegyenlítődik. A *Dd*-val történt fertőzések során szintén emelkedik a POD aktivitás. Az erősen fogékony fajtában nagyobb mértékű ez a változás, mint a rezisztens klónban. Ez hasonlóságot mutat az *Pcc*-nál tapasztaltakkal. Ez a változás azonban tartós, mivel feltételezhetően egy folyamatos emelkedésről van szó.

Alma esetében az *Ea* fertőzés hatására a fertőzést követő 24. órára tehető a változás, ekkor egy csökkenés figyelhető meg az enzimaktivitásban, amit egy emelkedés követ.

Honty (2010) hasonló eredményeket kapott kifejlett növények (körte) vizsgálatánál.

Az *in vitro* hajtások szénhidrát frakcióinak elemzése alapján a jól detektálható cukrok közül burgonyánál a glükózt és a fruktózt tudtuk kimutatni, míg almánál glükózt, fruktózt, szacharózt és a D-szorbitolt is (6. táblázat).

6. táblázat. Az eltérő baktériumfajok fertőzésének hatása a különböző szénhidrátok változására

Megfigyelési szempont	<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	<i>Dickeya dadantii</i>	<i>Erwinia amylovora</i>
Kiindulási szénhidráttartalom	Glükóz: EF>R Fruktóz: EF>R	Glükóz: EF>R Fruktóz: EF≤R	Glükóz: EF>R Fruktóz: EF<R Szacharóz: EF=R Szorbitol: EF>R
Mikor következik be változás a fertőzést követően	0-6 h ↓ 6-24 h ↑	0-24 h ↑	24 h
A változás tartós vagy kiegyenlítődik	KIEGYENLÍTŐDIK	TARTÓS	KIEGYENLÍTŐDIK

Burgonyánál a fruktóz változása jellemezte jól a kórfolyamatot, almánál pedig a szacharóz. *Pcc* fertőzés hatására a fruktóztartalom először csökkenésnek indult, majd kiegyenlített a változás. *Dd*-val történő fertőzés hatására viszont egy folyamatos fruktózemelkedést tapasztaltunk a rezisztens és a fogékony fajtában is. *Ea*-val végzett fertőzések során a szacharóztartalom változásában ellenkező tendencia érvényesült az eltérő fogékonyságú fajtákban.

Ezekből az eredményekből arra következtethetünk, hogy a gazdanövény azonos módon reagál a különböző baktériumok fertőzésére, azaz a kórfolyamatok nem függenek a betegségtípusoktól. A biotikus stressz hatására bekövetkező biokémiai folyamatok azonosak mind az *in vitro*, mind a kifejlett növényekben.

4.4. Új tudományos eredmények

Az új tudományos eredményeket az alábbiak szerint foglalom össze:

1. Új fertőzési eljárást dolgoztunk ki a lágyrothadást okozó *Erwinia* fajokkal szembeni ellenállóság tesztelésére mikroszaporított burgonyanövényeken és mikrogumókon.
2. Megállapítottam, hogy a burgonyafajták ellenállóságának mértéke az *in vitro* hajtásokon jelentkező tünetekkel jellemezhető legmegbízhatóbban az általam vizsgált módszerek közül.
3. A hajtás és gumó összesített adatainak ismeretében a fajtákat és nemesítési klónokat különböző fogékonysági kategóriákba soroltam.
4. Elsőként hasonlítottam össze lágyrothadás és hajtásszáradás betegségek során végbemenő növényi válaszreakciókat a peroxidáz stresszenzim és néhány fontosabb cukor változása alapján.
5. Mikroszaporított növények bevonásával elsőként bizonyítottam a biokémiai markerek alkalmasságát a fajták stressztűrésének meghatározására.
6. Az *in vitro* burgonya és almahajtások vizsgálati és értékelési módszerét kiegészítettem a fertőzött növényi szövetekben lévő baktériumok visszaizolálásával és telepszámlálásával.

Felhasznált irodalmak

1. FISCHER C. (2004): 161-164.p. In: SCHMIDT H., KELLERHALS M. (szerk.): *Progress in Temperate Fruit Breeding*. Nederlands: Kluwer Acad. Pub.
2. HEVESI M., PAPP J., JÁMBOR-BENCZÚR E., KASZÁNÉ CSIZMÁR K., POZSGAI I., GAZDAG GY., BALLA I. (2000): Testing the virulence of some Hungarian *Erwinia amylovora* strains on *in vitro* cultured apple rootstocks. *International Journal of Horticultural Science*, 6 (4): 52-55. p.
3. HONTY K. (2010): Körtefajták tűzelhalással szembeni ellenállósága és a betegség folyamatának jellemzése néhány biokémiai paraméter vizsgálatával. *Doktori értekezés*, Budapesti Corvinus Egyetem.
4. JÁMBOR-BENCZÚR E., KISSIMON J., FÁBIÁN M., MÉSZÁROS A., SINKÓ Z., GAZDAG GY., NAGY T. (2001): *In vitro* rooting and anatomical study of leaves and roots of *in vitro* and *ex vitro* plants of *Prunus x davidopersica* 'Piroska'. *International Journal of Horticultural Science*, 7 (1): 42-46. p.
5. MC MANNUS P. S., HEIMANN M. F. (1997): Apple, Pear and Related Trees Disorders: Fire blight. Wisconsin county Extension Office. <http://polk.uwex.edu>
6. SHANNON L., KAY E., LEW J. (1966): Peroxidase isozymes from *Horseradish* roots. Isolation and physical properties. *J. Biol. Chem.* 241 (9): 2166-2172. p.
7. SOBICZEWSKY P; DECKERS T., PULAWSKA J. (1997): Fire Blight (*Erwinia amylovora*), *Some Aspects of Epidemiology and Control. Res. Inst. of Pomology and Floriculture*. Poland, 43-46. p.
8. TÓTH M., FICZEK G., KIRÁLY I., KOVÁCS SZ., HEVESI M. (2012): 'Artemisz', 'Cordelia', 'Hesztia' and 'Rosmerta': New Hungarian Multiresistant Apple Cultivars. *HortScience*, 47 (12): 1795-1800. p.
9. TÓTH M., HEVESI M., HONTY K., KÁSA K. (2005): A Kárpátalján fellelhető alma genotípusok (régie és helyi fajták) tűzelhalással szembeni ellenállósága növényházi vizsgálatok alapján. *Növényvédelem* 41 (8): 341-348. p.
10. VLASOV N. M., PEREVERZEV D. S. (1989): Resistance to black leg in potato. 789-794. p. In: KLEMENT Z. (szerk.): *Plant Pathogenic Bacteria*. Akadémia Kiadó, Budapest.

Az értekezés témakörében megjelent publikációk jegyzéke

IF-es folyóiratcikk:

1. **Hudák I**, Dobránszki J, Sárdi É, Hevesi M. (2010): Changes in carbohydrate content of potato calli during osmotic stress induced by mannitol. *Acta Biologica Hungarica*. 61(2): 234-236. DOI: 10.1556/ABiol.61.2010.2.11 **IF: 0,793**
2. Kiss Z, Dobránszki J, **Hudák I**, Birkó Z, Vargha G, Biró S. (2010): The possible role of factor C in common scab disease development. *Acta Biologica Hungarica*. 61(3): 322-332. DOI: 10.1556/ABiol.61.2010.3.8 **IF: 0,793**

NEM IF-es folyóiratcikk:

1. **Hudák, I.** Dobránszki, J. Hevesi, M. (2006): *In vitro* methods for testing potato clones against soft rot *Erwinia*. (eds.: Fári GM, Holb I, Bisztray GyD) *Acta Horticulturae. International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium: 2006. 725(1), 445-449. ISBN: 90 6605 719 X*
2. Bubán, T. Beszeda, E. Dorgai, L. Foldes, L. **Hudák, I.** Dobránszki, J. Hevesi, M. (2006): *Erwinia amylovora* infection of flowers and shoots in apple trees treated with prohexadione-Ca. (eds.: Fári GM, Holb I, Bisztray GyD) *Acta Horticulturae. International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium: 2006. 704, 271-276. ISBN: 90 6605 719 X*
3. **Hudák I.**, Hevesi M., Dobránszki J., Magyar-Tábori K. (2009): *In vitro* tests of resistance to soft rot *Erwinia* on potato tubers. (ed.: A. Romano) *Acta Horticulturae. International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium: 2009. 812, 103-105. ISBN: 978-90-66050-87-7*
4. **Hudák I.**, Dobránszki J., Magyar-Tábori K., Stefanovits-Bányai É., Hevesi M. (2009): Influence of osmotic stress on biochemical properties in potato. (ed.: A. Romano) *Acta Horticulturae. International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium: 2009. 812, 237-240. ISBN: 978-90-66050-87-7*

Egyéb értékelhető cikk:

1. **Hudák, I.**, Dobránszki, J., Hevesi, M. (2002): Hazánkban izolált, burgonyát károsító *Erwinia*-fajok vizsgálata. "a Magyar Tudomány Napja 2002" alkalmából rendezett *Szabolcs-Szatmár-Bereg Megyei Tudományos Konferencia*. 2002. november 11.
2. Farkas Á., Bubán T., Orosz-Kovács Zs., Szabó L. Gy., **Hudák I.**, Horváth A., Bukovics P. (2003): Bion 50WG, a Biomit Plussz és a prohexadione-Ca(p-Ca) kezelések hatása az alma- és körtefajták florális attraktivitására, összefüggésben az *Erwinia*-érzékenységgel. "Kutatási Nap Újfehértón". 2003. január 28.
3. Hevesi M., **Hudák I.**, Tóth M., Szentkirályi A., Palkovics L. (2007): Biokémiai és genetikai azonosságok, különbségek különböző eredetű *Pantoea agglomerans* törzsek között. Kutatási Nap, Újfehértó 2007. január 25.

Konferencia kiadványok

Magyar nyelvű (full paper):

1. **Hudák, I.** (2005): A burgonya fekete szártörőhadása és a gumók baktériumos lágyrothadása „Agrárgazdálkodás, kutatás, oktatás újabb feladatai az Európai Unióban.” Tudományos Tanácskozás. 2005. szeptember 8. 145-152.
2. **Hudák, I.**, Hevesi, M., Dobránszki, J. (2005): *In vitro* tesztek alkalmazása hazánkban izolált *Erwinia* fajok elleni rezisztenciaszint vizsgálatához burgonyánál. 10. Tiszántúli Növényvédelmi Fórum. Az emberi környezet növényegészségügyi problémái 40 esztendő az entomológia szolgálatában. 2005. október 19-20. Debrecen. Előadások-Proceedings (ed.: Kövics, Gy.J., Dávid, I.) p.161-169.
3. Dobránszki J., Magyaré Táborki K., **Hudák I.** (2007): Biotechnológiai kutatások. In: Iszállyné Tóth Judit: Debreceni Egyetem Agrár-és Műszaki Tudományok Centruma Kutató Központ Nyíregyháza. 80. évi Jubileumi Kiadvány. p. 376-426. 2007.

Magyar nyelvű (abstract):

1. Bubán, T., Hevesi, M., **Hudák, I.**, Dorgai, L., Földes, L., Beszeda, E., Dobránszki J. (2004): Egyes almafajták virágainak *Erwinia amylovora* fertőzöttségét befolyásoló néhány tényező. Növényvédelmi Tudományos Napok, 2004. február 24-25., Budapest. p. 77.
2. Bubán T., Lakatos T., Tóth T., Dorgai L., **Hudák I.**, Hevesi M., Stockwell O. V. (2007): Antagonista baktériumok *Erwinia amylovora*-val szembeni hatékonyságának összehasonlítása. Növényvédelmi Tudományos Napok. 2007. február 20-21., Budapest. p. 18.
3. **Hudák, I.**, Hevesi, M., Dobránszki, J., Magyar-Tábori K. (2007): *Erwinia carotovora*-val szembeni rezisztenciaszint vizsgálata üvegházi burgonyagyümölcsön. 53. Növényvédelmi Tudományos Napok. 2007. február 20-21., Budapest. p. 70.
4. **Hudák, I.**, Dobránszki, J., Sárdi É., Hevesi, M. (2007): Cukrok, mint biokémiai markerek vizsgálata burgonyánál ozmotikus stressz hatására. XIII. Növénynevelési Tudományos Napok. 2007. március 12., Budapest. p. 107.
5. **Hudák I.**, Stefanovits-Bányai É., Dobránszki J., Hevesi M. (2008): Burgonya kalluszok biokémiai vizsgálata ozmotikus stressz hatására. In: Kiss József, Heszky László (eds.): XIV. Növénynevelési Tudományos Napok Összefoglalók, 2008. március 12., MTA, Budapest. p. 61.
6. **Hudák I.**; Dobránszki J.; Magyar-Tábori K.; Hevesi M.; Tóth M. (2013): Tüzelhalással szembeni ellenállóság vizsgálata mikroszaporított almanövényeken. XIX. Növénynevelési Tudományos Napok, Keszthely. ISBN 978-963-9639-50-8, pp 98.

Nemzetközi konferencia (full paper):

1. **Hudák I.**, Hevesi M., Dobránszki J., Magyar-Tábori K. (2007): Tissue culture methods for screening resistance to *Pectobacterium chysanthemi* in potato. In: Proceeding Book of „Joint International Conference on Long-term Experiments, Agricultural Research and natural Resources”. Debrecen-Nyírlugos, 31st May-1st June, 2007. p. 191-195.

Nemzetközi konferencia (abstract):

2. **Hudák, I.**, Hevesi, M., Dobránszki, J. (2003): *In vitro* methods for screening resistance to soft rot in potato. 2nd International Symposium "Prospects for the 3rd Millenium Agriculture". October 9-11, 2003. Cluj-Napoca, Románia. Bulletin of the University of Agricultural Sciences and Vetenary Medicine, Vol. 59. 2003. p.299. ISSN 1454-2382
3. **Hudák, I.**, Hevesi, M., Dobránszki, J. (2004): Tissue culture methods for screening resistance to soft rot in potato. Sixth Triennial Congress of the African Potato Association. "Research, Development, Innovation, for Income Generation" April 5-10. 2004. Morocco. p. 360-361.
4. **Hudák, I.**, Hevesi, M., Dobránszki, J. (2004): *In vitro* methods for testing potato clones against soft rot *Erwiniae*. 5th International Symposium on In Vitro Culture and Horticultural Breeding. September 12-17. 2004. Debrecen p. 168.
5. Hevesi, M., **Hudák, I.**, Dorgai, L., Szentkirályi, A., Bubán, T. (2005): *Pantoea agglomerans* strain HIP32: a new bacterial antagonist to *Erwinia amylovora*. International conference on Biological and Pro-ecological methods for control of diseases in orchards and small fruit plantaltions. 29-31 August 2005. Skiernewicze, Poland
6. **Hudák, I.**, Hevesi, M., Dobránszki, J. (2005): *In vitro* tests of soft rot *Erwiniae* on potato clones. 16th Triennial Conference of the European Association for Potato Research. 17-22 July 2005. Bilbao, Spain. p. 751-752.
7. Bubán T., Lakatos T., Tóth T., Dorgai L., **Hudák I.**, Hevesi M. (2006): Efficacy of *Pantoea agglomerans* strain HIP32 against *Erwinia amylovora*. COST Action 864, Pome Fruit Research in Europe, 2006. november 20-21., Vienna . 87-90. p.
8. **Hudák I.**, Dobránszki J., Sárdi É., Hevesi M., Magyar-Tábori K. (2008): Effect of biotic stress on the activity of stress enzymes in potato plantlets. In: Chiru S., Oltenau G., Aldea C., Bădărău C. (eds): Potato for a changing world. Abstracts of 17th Triennial Conference of the European Association for Potato Research, 2008, July 06-10, Brasov Romania, p.570

9. **Hudák I.**, Dobránszki J., Sárdi É., Hevesi M. (2009): Sugars as Biochemical Markers in the Evaluation of Osmotic Stress in Potato Calli. International Conference on “Plant Abiotic Stress Tolerance” in Vienna, February 8-11, 2009. p. 84.
10. Dobránszki J., **Hudák I.**, Magyar-Tábori K. (2011): In vitro tests for evaluation of resistance to common scab using potato microtubers. International Symposium on Plant Biotechnology towards Tolerance to Stresses and Enhancing Crop Yield, Ranchi, India, September 28-October 1.

Könyv, könyvrészlet, jegyzet (magyar nyelvű):

1. Dobránszki J., **Hudák I.**, Magyaréné Tábori K.(2008): Ozmotikum indukált biokémiai markerek azonosítása *in vitro* burgonya tenyészetekben. A Klímaváltozás és a Növénynevelés (szerk: Iszályné Tóth J.) 2008. p.35-47. ISBN 978-963-9732-80-3
2. **Hudák I.**, Dobránszki J., Magyaréné Tábori K.(2008): Érzékeny és toleráns klónok biokémiai vizsgálata biotikus stressz hatására. A Klímaváltozás és a Növénynevelés (szerk: Iszályné Tóth J.) 2008. p.49-57. ISBN 978-963-9732-80-3
3. **Hudák I.**, Romhány L., Dobránszki J., Magyaréné Tábori K. (2008): Napraforgó *Plasmopara* ellenállóságának vizsgálata *in vitro* körülmények között. A Klímaváltozás és a Növénynevelés (szerk: Iszályné Tóth J.) 2008. p.59-66. ISBN 978-963-9732-80-3
4. Dobránszki J., **Hudák I.** (2010) Biotechnológiai eljárások kidolgozása stresszel szembeni tolerancia vizsgálatára burgonyánál. In: Lazányi J (ed) Növénynevelés és fajtafenntartás az Észak-alföldi Régióban. DELA Kft., Debrecen, pp. 5-19. ISBN: 978-963-88930-0-0