



SZENT ISTVÁN
EGYETEM



A. D. 1853

KERTÉSZETTUDOMÁNYI KAR, BUDAPEST

SZENT ISTVÁN EGYETEM
KERTÉSZETTUDOMÁNYI KAR

**A Bois noir betegség járványtana, és hatása a szőlő és a bor
minőségére Magyarországon**

Doktori értekezés (PhD) tézisei

Ember Ibolya

Gödöllő

2016

A doktori iskola

megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola

tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok

vezetője: **Prof. Dr. Zámборiné Németh Éva**
tanszékvezető, egyetemi tanár, DSc
Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar,
Gyógy és Aromanövények Tanszék

Témavezetők:

Prof. Dr. Bisztray György Dénes
egyetemi tanár, PhD
Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar,
Szőlészeti és Borászati Intézet, Szőlészeti Tanszék

Prof. Dr. Palkovics László
tanszékvezető, egyetemi tanár, DSc
Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar,
Növénykórtani Tanszék

Külső témavezetők:

Dr. Xavier Foissac
Szenior kutató, PhD, Habilitation to supervise research (HDR)
INRA és Bordeaux-i Egyetem,
UMR 1332 Biologie du Fruit et Pathologie, Villenave d'Ornon, Franciaország

Prof. Dr. Jacobus J. Hunter
Szenior kutató, egyetemi tanár, PhD
Agricultural Research Council Infruitec-Nietvoorbij és Stellenbosch-i Egyetem,
Szőlészeti és Borászati Tanszék, Stellenbosch, Dél-afrikai Köztársaság

A jelölt a Szent István 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 témavezetők jóváhagyása

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

A fitoplazmák okozta Szőlő Sárgaság betegségek világszerte károkat okoznak a szőlő- és borágazatnak. Európában az egyik leggyakoribb Szőlő Sárgaság betegség a 'Candidatus Phytoplasma solani' okozta Bois noir (BN, Feketevevesszőjűség), amely betegség kezelése nehézkes és ellen való védekezés elsősorban a megelőzésen alapszik. Az európai és így a magyarországi ültetvényekben a Bois noir betegség gyakori, mert kórozója a 'Ca. P. solani' endemikus az Euro-Mediterrán térségben (Maixner 2011). A betegség kórokozója vad rezervoárokról, mint az aprószulák és a nagy csalán növényekről terjed szőlőre és más termesztett növényre. Európában minimum négy kabóca faj (*Cixiidae*) a 'Ca. P. solani' vektora. Közülük két faj, a *Hyalesthes obsoletus* és a *Reptalus panzeri* képes a kórokozót szőlőre átvinni, azonban további *Cixiidae* családba tartozó kabócafajok vektorátviteli képessége sem kizárható (Cvrkovic *et al.* 2013, Maixner and Mori 2013).

H. obsoletus ökotípusok különböző 'Ca. P. solani' genotípusokat képesek átvinni, amely genotípusok gazdanövényhez is köthetők, ilyenek az apró szulákon és a nagy csalánon előforduló genotípusok (Langer és Maixner 2004). A fitoplazmák genetikai változatosságát előidéző rovar-fitoplazma kapcsolatokról viszonylag kevés információ áll a rendelkezésünkre. A fitoplazma membránfehérjék fontos szerepet játszhatnak bizonyos rovarok kórokozó átviteli képességének kialakulásában (Susuki *et al.* 2006, Fabre *et al.* 2011). A kórokozó forrásának azonosítása, valamint terjedésének nyomon követése és ez által az okozott betegség járványtani potenciáljának meghatározása egy ültetvényben fontos cél. A multilokus szekvencia alapú elemzéseket (MLST) gyakran használják a baktériumok és törzsek járványtani és populációgenetikai tulajdonságainak vizsgálatára. A baktérium törzsek precíz jellemzésére elsősorban neutrális géneket (háztartási gének) használnak. Azonban funkcionális markerek alkalmazásával szélesebb körű, a járványtani tulajdonságokkal szorosan összefüggő információkkal bővíthetők a MLST jellemzések.

A BN betegséggel szemben a szőlő fajták eltérően viselkednek. A Chardonnay fajta fokozott érzékenysége felhívja a figyelmet a betegség okozta károkra és az ellene való védekezés szükségességére. A védekezések alapját szolgáltathatja egy, a fitoplazmás tőkéknél megfigyelt jelenség, a beteg növények spontán gyógyulása („recovery”), amely állapot egyes növényeknél állandósulhat és teljes gyógyulás következhet be (Caudwell 1961). A BN és Flavescence dorée (FD) beteg tőkék kigyógyulása lehet spontán vagy indukált, amely abiotikus stressz vagy kémiai kezelések hatására következik be (Osler *et al.* 1993, Romanazzi *et al.* 2009). A közelmúltban innovatív védekezést dolgoztak ki, amely során BN beteg tőkék gyógyulását érték el úgy, hogy

szisztemikusan szerzett rezisztenciát indukáltak különböző rezisztenciafokozó szerekkel (Romanazzi *et al.* 2013).

A BN betegség Magyarországon elterjedt (Kölber *et al.* 2003), azonban kevés információ áll rendelkezésünkre a hazai 'Ca. P. solani' izolátumok genetikai diverzitásáról, valamint arról, hogy hazánkban mely rezervoárok a fő kórokozó források és mely rovarok viszik át a kórokozót. A szőlőtermesztésben fő szempont a jó minőségű végtermék előállítása. Annak ellenére, hogy a Szőlő Sárgaság betegségek okozta károk világszerte megfigyelhetők, a BN betegség hatásának átfogó vizsgálata, valamint a termés minőségében és a borban okozott hatásainak vizsgálata eddig még nem történt meg. A szaporítóanyagoknál fitoplazma-mentesítésre alkalmazott meleg-vizes áztatáson kívül a BN betegség ellen nem áll rendelkezésre megfelelően hatékony védekezési technológia. Mivel a 'Ca. P. solani' vektor kabóca fajok nem táplálkoznak folyamatosan a szőlőn, így az ellenük való inszekticides kezelések nem hatásosak, ezért a BN betegség elleni védekezés igen nehézkes.

Ezek alapján a következő célokat tűztük ki:

1. Bois noir betegség járványtani vonatkozásainak vizsgálata Magyarországon:

- a 'Ca. P. solani' törzsek genetikai diverzitásának vizsgálata a hazai borvidékeken,
- a 'Ca. P. solani' vektor kabóca fajok előfordulásának vizsgálata és átviteli kísérletek elvégzése,
- a hazai 'Ca. P. solani' törzsek szekvencia meghatározása új generációs szekvenálással, és
- a rovar-fitoplazma fehérje kapcsolatok vizsgálata.

2. Bois noir betegség hatásának több éves vizsgálata a Chardonnay fajta teljesítményére az Egri borvidéken:

- a vegetatív paraméterekre gyakorolt hatások,
- a termés mennyiségére és minőségére gyakorolt hatások, és
- a bor beltartalmára és érzékszervi tulajdonságaira gyakorolt hatások vizsgálata.

3. 'Ca. P. solani'-fertőzött Chardonnay szőlő tőkék gyógyítására irányuló szabadföldi permetezési kezelések rezisztencia fokozó készítményekkel az Egri borvidéken.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. Bois noir betegség járványtani vonatkozásai Magyarországon

‘*Ca. P. solani*’ törzsek genetikai diverzitása a magyarországi borvidékeken. A fitoplazma fertőzöttség vizsgálatokra az Egri, Tokaji, Kunsági, Villányi, Soproni és Etyek-Budai borvidékekről (16 helység, 7 megye) 136 növényi mintát, elsősorban szőlőt, vad rezervoár és potenciális rezervoár növényeket, továbbá levendulát és burgonya-féléket gyűjtöttünk be 2011, 2012 és 2013 években. A DNS kivonást levéléből végeztük CTAB módszerrel (Clair *et al.* 2003). A fitoplazma specifikus 16S rDNS régió felszaporítását nested-PCR rendszerben P1/P7 (Deng and Hiruki 1991, Smart *et al.* 1996) és R16F2n/R16R2 (Lee *et al.* 1995) univerzális indító szakaszokkal végeztük. A pozitív mintákat restriktions endonukleázokkal hasítva RFLP módszerrel vizsgáltuk. A ‘*Ca. P. solani*’ pozitív minták közül 46 izolátumot választottunk ki a MLST-alapú (Multi Locus Sequence Typing) jellemzésekre, amit 5 genetikai marker alapján végeztünk el: *secY*, *tuf* és *yidC* (háztartási gének), valamint *vmp1* és *stamp* (funkcionális gének). Továbbá öt új markert fejlesztettünk és azok variabilitását vizsgáltuk. Ezek a *yidC*, *ligA*, *priA*, *alaS* és *pheT* háztartási gének voltak, amelyek kiválasztásának az alapját a ‘*Ca. P. solani*’ PO törzs genomja képezte. Az MLST-re kiválasztott lókuszok vizsgálata a PCR-t követően, direkt szekvenálással történt (Macrogen, Amsterdam, The Netherlands, or Base-Clear, Leiden, The Netherlands). A szekvenciák szerkesztését és illesztését a Staden Package (Version 3.3) és CLUSTAL W programokkal végeztük. A MEGA 6 szoftver alkalmazásával, a filogenetikai analízist neighbour joining (NJ) módszerrel végeztük (Tamura-Nei modell) (Tamura *et al.* 2011), amely során minden vizsgált gén esetén a szekvenciáinkat referencia szekvenciákhoz hasonlítottuk, amelyeket Dr. X. Foissac és a Stolbur-Euromed Consortium bocsájtott a rendelkezésünkre.

Magyarországi ‘*Ca. P. solani*’ törzsek rovarátviteli kísérletei. A *Cixiidae* családba tartozó kabóca fajok fűhálózással lettek begyűjtve 2013-ban, Sopron, Fertőd, Etyek, Monorierdő, Eger, Andornaktálya és Tolcsva helységekből. Az élő rovarokat (növényenként öt) Madagaszkári rózsameténgre (*Catharanthus roseus*, Polka dot XP hibrid) helyeztük táplálkozni, majd 8-10 nap után a rovarokat összegyűjtöttük morfológiai és/vagy molekuláris fajhatározásra, valamint a fitoplazma-kabóca fehérje interakciós kísérletekhez. A *Reptalus* fajok határozását a citokróm-oxidáz I gén alapján PCR-RFLP módszerrel végeztük (Bertin *et al.* 2010). A Madagaszkári rózsameténgéken megjelenő tüneteket folyamatos megfigyeltük.

Magyarországi ‘*Ca. P. solani*’ törzsek új generációs szekvenálása NGS módszerrel. Annak érdekében, hogy újabb genom információkhoz juthassunk a rovarátviteli kísérleteink során átvitt ‘*Ca. P. solani*’ törzseket (HO11 és REP2) új generációs szekvenálásnak (NGS) vetettük alá. E két

hazai törzs kiválasztása a *stamp* csoportba való besorolásuk alapján történt: *stamp* II (HO11) és III (REP2) csoport. A Madagaszkári rózsameténgen fenntartott törzsek DNS kivonását (Claire *et al.* 2003) követően a fitoplazma DNS-t cézium-klorid jelenlétében, sűrűséggradiens centrifugálással dúsítottuk fel/különítettük el a tesztnövény DNS-étől (Kollar *et al.* 1990). Ezt követően történt meg a HO11 és REP2 törzsek Illumina Solexa új generációs szekvenáltatása (UDGGenomed, Debreceni Egyetem) a KTIA_AIK_12-1-2013-0001 számú pályázat finanszírozásában.

Rovar-kórokozó fehérje kapcsolatok vizsgálata. Hazánkban a *stamp*-ST4 és *stamp*-ST9 (II csoport) genotípusok fordultak elő dominánsan, ezért vizsgálatainkhoz ezt a két genotípust hordozó hazai '*Ca. P. solani*' törzset használtuk. A *stamp* gén centrális hidrophil doménjét kódoló rész felszaporítására primereket terveztünk, és a felszaporított ST4 és ST9 fragmenteket In-Fusion HD Cloning Kit (Clontech) használatával His6xTag-et is hordozó pET-28b(+) vektorba (Novagen, Merck) klónoztuk. A rekombináns fehérjék expresszióját *Escherichia coli* BL21* (Invitrogen Corporations) törzsben végeztük. A His6x-tag-el jelölt fúziós proteineket nikkel-affinitás kromatográfiás módszerrel kötöttük meg (HIS-Select Nickel Affinity, Sigma-Aldrich) és imidazol gradiens elúcióval mostuk le az oszlopról.

A kórokozó-kabóca fehérje kapcsolatok vizsgálatokhoz első lépésben a rendelkezésünkre álló, *stamp* I csoport ellen előállított 2A10 monoklonális antitest (MAb) (Fos *et al.* 1992) epitóp felismerő képességét ellenőriztük a *stamp* II, III, és IV csoportba tartozó, Madagaszkári rózsameténgen fenntartott '*Ca. P. solani*' törzsek esetében. Western-blot analízis során 6xhisztidin epitópot felismerő anti-His, majd torna-peroxidázzal (HRP) konjugált anti-egér IgG-t (Sigma-Aldrich) használtunk (Fabre *et al.* 2011a). A kemilumineszcens jelet Super Signal West Pico kittel hívtuk elő és röntgen filmen rögzítettük (Thermo Scientific Pierce Protein Biology).

Az ST4 és ST9 fúziós STAMP és a rovar fehérje közötti interakciót Dot-Western-blot teszttel vizsgáltuk (2A10 IgG alkalmazásával). Ehhez a fehérje kivonásokat vektor: *H. obsoletus* (apró szulák, nagy csalán és levendula növényekről gyűjtött populációk), *R. panzeri*; potenciális vektor: *R. quinquecostatus*, *R. cuspidatus*; és nem-vektor: *Euscelidius variegatus*, *Circulifer haematoceps* fajokból végeztük el (Galetto *et al.* 2011).

2.2. Bois noir betegség hatása a Chardonnay fajta teljesítményére az Egri borvidéken

A 2012 és 2014 között elvégzett három éves kísérletet a Károly Róbert Főiskola, Szőlészeti és Borászati Kutatóintézetéhez tartozó, Kőlyuktetőn fekvő, 0,6 hektáros kísérleti Chardonnay ültetvényében végeztük. Az 1,2 m x 3,0 m térállású, Moser-kordonművelésű ültetvényben tőkék terhelése egységesen 18-20 rügy volt. Méréseket három random blokkban, összesen 15 (3 x 5) egészséges és 15 (3 x 5) BN beteg tőkén végeztük el. A kijelölt blokkokban az összes növény tünet felvételezése minden évben a szüret előtt történt. Továbbá a kijelölt tőkék fitoplazma

fertőzöttségének és egészséges státuszának ellenőrzését molekuláris vizsgálattal 2011-ben elvégeztük.

Vegetatív és reprodukzív teljesítmény. A vegetatív paraméterek mérése során a metszékori vessző tömeget, a vessző beérést, valamint a levélsodródás mértékét és a levelek klorofill tartalmát mértük. A termés mennyiségi és minőségi paramétereinek megállapítása során mértük: a kötődést (pártasapka és bogyószám alapján), a fürt és kocsány tömeget, a normál és rendellenes bogyók számát. A termésmennyiséget a tőkénkénti fürtszám, fürt átlagtömeg, 100 bogyó tömeg értékekkel alapján határoztuk meg, és a tőkénként a tünetes fürtök számát is lejegyeztük. A termés beltartalmát a vízben oldható szárazanyag-tartalommal (Brix°), a titrálható savtartalommal (TA) (g/L borkősavban kifejezve) és a pH értékkel jellemeztük.

Kísérleti borok készítése. Három évjáratban (2012, 2013 és 2014) készítettünk kísérleti borokat, amelyhez a termést kézi szürettel, teljes érésben, szeptember első felében szedtük le. A mustokat a Károly Róbert Főiskola, Szőlészeti és Borászati Kutatóintézetének kísérleti pincéjében erjesztették. Az egészséges tőkék teljes termése, valamint a BN beteg tőkék teljes termése (60 kg/tétel) tételenként három borászati ismétlésben lett feldolgozva minden kísérleti évben. A 2013 és 2014 években további kísérleti bor készült, amikor is a beteg tőkék tünetes hajtásainak termését dolgoztuk fel, egy borászati ismétlésben. A mustok és a borok erjesztése és kezelés minden évben standard fehérbor készítési technológiával, azonos módon történt.

Kísérleti borok beltartalmi vizsgálata. A kísérleti borokban az alapanalízist (alkohol-tartalom, titrálhatósav-tartalom, pH-érték, maradék cukor-tartalom) a Magyar Borkönyv, Borok vizsgálata című fejezet alapján végezte el a Borászati Tanszék (SZIE, Kertészettudományi Kar). Az összes polifenol-tartalmat Folin-Ciocalteu reagens segítségével, galluszsavban g/l-ben kifejezve, spektrofotometriás módszerrel, illetve a színintenzitást szintén spektrofotometriás módszerrel határoztuk meg.

A savösszetétel és az egyszerű fenolok meghatározása HPLC-technika segítségével történt, amely vizsgálatok Dr. Szekeres András and Dr. Bencsik Ottó (Szegedi Egyetem) végzett el és az eredményeket a rendelkezésünkre bocsátotta.

Kísérleti borok érzékszervi bírálata. A profilanalízist 11 bíráló végezte minden évben. Az egészséges tőkék (H), a BN beteg tőkék (BN) és a BN beteg hajtások borait megjelenés (szín és tisztaság), aroma (intenzitás, minőség, gyümölcsösség és fajta jelleg) és íz (hosszúság, savérzet, keserűérzet és harmónia) szerint jellemeztük. Az illat és íz hibákat, valamint az összbenyomást is feljegyeztük, a tulajdonságokat 0-tól (gyenge) 10-ig (kifejezett) terjedő skálán osztályoztuk.

Statisztikai elemzés. A statisztikai elemzésekhez az IBM SPSS 22. verziót (IBM Corp., Armonk, NY, USA) használtuk. A vegetatív és reprodukzív, valamint termés minőségi paramétereinek

eredményeit egytényezős ANOVA; a boranalízis eredményeit kéttényezős MANOVA; a profilanalízis eredményeit Mann-Whitney U tesztekkel vizsgáltuk. A BN betegséget jellemző vegetatív és reprodukív paramétereket neural network modellel és diszkriminancia analízissel állapítottuk meg.

2.3. A 'Ca. P. solani'-fertőzött szőlő tőkék gyógyítására irányuló kezelések

A rezisztenciafokozó szerekkel végzett permetezési kísérleteket 2012 és 2014 között a 2.2.-ban leírt területen végeztük el, két kereskedelmi forgalomban lévő kísérleti szerrel. A két kezelést és a kezeletlen kontrollt három ismétlésben állítottuk be. A kezeléseket glutation és oligoszaharid (3 l/ha), valamint benzotiadiazol (0.2 kg/ha) aktív hatóanyagú szerekkel végeztük Romanazzi és *mts.* (2009) alapján. Ezeket a szisztemikusan indukált rezisztenciát előidéző szereket 7-10 napos gyakorisággal juttattuk ki a hajtásnövekedés kezdetétől a fűtzáródásig (EL-12-től EL-32-ig, Coombe 1995). A tünetek előfordulást és súlyosságát, továbbá a tünetmentességet minden év szeptemberében vizuálisan értékeltük. A kezelések hatására előidézett és a kontrollnál természetesen bekövetkező tünetmentességet, valamint az előidézett tünetmentesség (gyógyulás) tartósságát több mutatóval jellemeztük: a gyógyulás relatív gyakorisága, a gyógyulást követő tünetmentes státusz fenntartásának hossza (1,2, 3 és 4 év), valamint a tünetek újra megjelenésének gyakorisága. A statisztikai értékelést MANOVA és Marascuillo teszttel végeztük (Marascuillo and McSweeney 1977).

3. EREDMÉNYEK

3.1. Bois noir betegség járványtani vonatkozásai Magyarországon

‘*Ca. P. solani*’ törzsek genetikai diverzitása a magyarországi borvidékeken. Annak érdekében, hogy megállapítsuk, mely rezervoárok játszanak elsődleges szerepet a szőlő növények ‘*Ca. P. solani*’-val történő megfertőződésében, öt magyarországi borvidéken mértük fel a BN ökológiai rendszereit. Magyarországon megerősítettük a ‘*Ca. P. solani*’ jelenlétét szőlőben, zellerben, burgonya-félékben és apró szulákban, továbbá bizonyítottuk a kórokozó jelenlétét levendulában, vadszederben, piros árvacsalánban és mezei szilben. Az MLST vizsgálatainkba több genetikai lókuszt vontunk be: *tuf* és *secY* háztartási, valamint *vmp1* és *stamp* funkcionális markereket, amely gének a ‘*Ca. P. solani*’ genotipizálására Európában széles körben alkalmaznak. Azonban annak érdekében, hogy szélesítsük a kórokozó és törzseinek diverzitásvizsgálatára használható markerek számát, munkánk során öt, eddig még nem vizsgált, háztartási géneket kódoló lókuszt választottunk ki. A markerek variabilitását reprezentatív ‘*Ca. P. solani*’ törzseken teszteltük, az öt marker közül a *yidC* (sejt membrán fehérje integrációs rendszer egyik fehérjéjét kódoló gén) bizonyult a legvariábilisabbnak és alkalmazhatónak MLST vizsgálatokra.

Az öt hazai borvidékről származó ‘*Ca. P. solani*’ izolátum diverzitásának vizsgálatát *tuf*, *secY*, *yidC*, *vmp1* és *stamp* gének alapján végeztük el és bizonyítottuk a következő genotípusok hazai borvidékeken való jelenlétét. Hazánkban az apró szulákhoz köthető *tuf*-b1 és a csalánhoz köthető *tuf*-b2 genotípusokat azonosítottuk. A fitoplazma fertőzöttséget csalánon nem tudtuk kimutatni hazánkban, azonban hazai szőlő mintákban a *tuf*-b2 (csalánhoz köthető) típust azonosítottunk. A *vmp1* gén vizsgálatok a V2, V9, V13 és V18 genotípusok előfordulását igazolták. A V18 gyakori genotípus szőlőn és nagy csalánon is Európában. Mind a *tuf*, mind a *vmp1* csalánon előforduló genotípusok megtalálása szőlőn arra utal, hogy e genotípusok hazánkban is nagy csalánról terjednek a szőlőre. Európa többi országához hasonlóan, a *secY* S1, S4 és S6 genotípusok gyakoriak hazánkban. Általában az S1 és S4 apró szulákon és szőlőn gyakori, míg az S6 genotípust elsősorban nagy csalánon és szőlőn írták le (Foissac személyes közlés). Ez összhangban áll a mi hazai eredményeinkkel is, miszerint az S1 és S4 szőlőn és apró szulákon, míg az S6 genotípust csak szőlőn találtuk meg. A *stamp* gén nagyfokú diverzitását hazai viszonylatban is igazoltuk. Szőlőn dominánsan a *stamp* ST6 (IV csoport) fordult elő, ezt követték a ST4, ST9 és ST9D (I csoport) genotípusok. Apró szulákon az ST4 és ST9 fordult elő, ami arra utal, hogy e genotípusok az apró szulákról, mint fitoplazma rezervoárról kerülnek a szőlőre. Az ST6 genotípust piros árvacsalánban és levendulán találtuk meg, amely arra utal, hogy a piros árvacsalán ‘*Ca. P. solani*’ rezervoárként szerepet játszik e genotípus szőlőre való terjedésében. Hazánkban a szőlő növényen leggyakrabban előforduló genotípusok az S6/V18/ST6, S1/V2/ST4 és S1/V2/ST9 voltak.

Magyarországi ‘*Ca. P. solani*’ törzsek rovarátviteli kísérletei. 2013-ban Magyarország négy helységéből gyűjtött *Cixiidae* családba tartozó kabócafajjal: *H. obsoletus*, *R. panzeri*, *R. quinquecostatus* és *R. cuspidatus* végeztünk rovarátviteli kísérleteket. Három Madagaszkári rózsameténgen, a kabócák ráhelyezését és táplálkozását követő 28 nappal fitoplazma tünetek (levelek sárgulása és a virágok zöldülése) jelentek meg. Ennek alapján elsőként bizonyítottuk, hogy a *H. obsoletus* képes a ‘*Ca. P. solani*’ ST4 (II csoport) *stamp* genotípust, a *R. quinquecostatus* kabóca pedig az ST13 (III csoport) *stamp* genotípus Madagaszkári rózsameténgre átvinni. A gyűjtések során megállapítottuk, hogy a *H. obsoletus* és *R. quinquecostatus* fajok voltak a leggyakrabban csapdázott rovarok. Hasonlóan Elekes és *mtsai*. (2006) megfigyeléséhez a *H. obsoletus* populációkat elsősorban nagy csalánon lehetett gyűjteni, apró szulákon csak néhány egyed fordult elő.

Magyarországi ‘*Ca. P. solani*’ törzsek új generációs szekvenálása NGS módszerrel. Sikeres átviteli kísérletünk után elvégeztük az apró szulákról gyűjtött és *H. obsoletus* által átvitt ST4 (*stamp* II csoport), valamint a szőlő melletti vad növényekről gyűjtött és *R. quinquecostatus* által átvitt és ST13 (*stamp* III csoport) genotípusokat hordozó HO11 és REP2 kódú magyarországi ‘*Ca. P. solani*’ törzsek új generációs genom szekvencia meghatározását. A sikeres NGS érdekében a fitoplazma DNS-t sűrűség-gradiens ultracentrifugálással különítettük el a növényi DNS-től, és megfelelő mennyiségű és minőségű dúsított fitoplazma DNS-t kaptunk. A szekvencia meghatározást elvégeztük, de részletes genom információk még nem állnak rendelkezésre, mert a genomok *de novo* összeállítása még folyamatban van.

Rovar-kórokozó fehérje kapcsolatok vizsgálata. E kísérletben a kórokozó és a kompetens vektor(ok) között kialakuló specifikus fehérje kapcsolatokat vizsgáltuk, amelyhez STAMP fehérje kimutatásra alkalmas monoklonális antitest (2A10 MAb) állt rendelkezésre. Vizsgálatainkkal bizonyítottuk, hogy a ‘*Ca. P. solani*’ *stamp* I csoportba tartozó törzs ellen előállított 2A10 MAb felismeri mind a négy *stamp* csoport, ezért alkalmas azok szerológiai kimutatására is.

A két, hazánkban leggyakoribb *stamp* genotípust (ST4 és ST9) kiválasztva rekombináns STAMP fúziós fehérjéket állítottuk elő. Bizonyítottuk a STAMP II csoport (fp_ST4 és fp_ST9) és a *H. obsoletus* (apró szulák ökotípus), valamint a *R. quinquecostatus* kabóca fajok között létrejövő kapcsolatot. Míg a *H. obsoletus* (nagy csalán ökotípus) és a *R. panzeri* fajokkal az interakció alacsonyabb intenzitást mutatott. Eredményeink arra utalnak, hogy a *H. obsoletus* apró szulák ökotípusa a *stamp* II csoport kompetens vektora. *R. quinquecostatus* vektorátviteli képességeit szőlő esetében még nem sikerült bizonyítani (Cvrkovic *et al.* 2013), azonban eredményeink alapján (ST13 genotípus átvitele *R. quinquecostatus* fajjal *C. roseus* növényre, valamint e genotípus kimutatása szőlőből) feltételezhetjük, hogy a *R. quinquecostatus* lehetséges vektora a

stamp ST13 genotípusnak. Vizsgálatainkkal elsőként bizonyítottunk *in vitro* interakciót 'Ca. P. solani' STAMP és *H. obsoletus*, *R. quinquecostatus* kabócák között.

3.2. Bois noir betegség hatása a Chardonnay fajta teljesítményére az Egri borvidéken

Vegetatív és reprodukív teljesítmény. A vegetatív és reprodukív tulajdonságok, valamint a termés beltartalmában mért értékek szignifikáns növekedése/csökkenése, az egészséges tőkékhez viszonyítva, három év átlagában a következők voltak: sodródás okozta levélfelület csökkenés (-28,0%), levél friss- és száraztömeg (+11,2% és +19,5%), relatív klorofill tartalom (-30,4%), tőkénkénti össztermés (-68,4%), 100 bogyó tömeg (-32,5%), fűrtszám/tőke (-56,7%), tünetes fűrt/tőke (+97,2%), száraz fűrt/tőke (+90,4%), titrálható savtartalom (+16,4%), pH (-2,7%) és vízben oldható szárazanyag-tartalom (Brix°) (-6,2%). Méréseinkkel megerősítettük, hogy a BN betegség hatására csökken a fotoszintetikusan aktív lombfelület, a fertőzött hajtások nem érnek be, rajtuk a rügyek életképtelenek, elfagynak. Igazoltuk, hogy a betegség hatására a termésmennyiség jelentősen csökken, amelynek mértéke mind a három vizsgált évben meghaladta az 53%-ot. Vizsgálataink elsőként adnak átfogó, több éves konkrét adatokkal alátámasztott képet a szőlő (*Vitis vinifera*, Chardonnay fajta) esetében a BN okozta vegetatív és reprodukív teljesítmény változásáról.

Kísérleti borok beltartalmi vizsgálata. Elsőként bizonyítottuk, hogy a 'Ca. P. solani' okozta BN negatívan befolyásolja a bor minőségét a Chardonnay fajta esetében az Egri borvidéken. A fertőzött tőkék terméséből készült borok kedvezőtlen érzékszervi jellemzőit (magas sav- és keserűérzet, rózsaszín elszíneződés) a rutin és analitikai vizsgálatokkal is alátámasztottuk. A borban mért paraméterek szignifikáns növekedése/csökkenése, az egészséges tőkék terméséből készült borokhoz viszonyítva, három év átlagában a következők voltak: alacsonyabb alkoholtartalom (-5,3%), mélyebb szín (egyes években rózsaszín/pink elszíneződés) (+22,2%), emelkedett titrálható savtartalom (+7,9%), emelkedett almasav és citromsav (+4,5% és +6,0%), emelkedett kalcium és magnézium szint (+8,4%, 4,4%), csökkent vas (-5,4%), emelkedett hidroxifahéjsav tartalom (kaftársav +3,6% és kávésav +36,1%), és csökkent flavonoid tartalom (katechin -8,9%, epikatechin -14,4%).

Kísérleti borok érzékszervi vizsgálata. A 2012 (jellemezően meleg és extrém száraz) és 2013 (kiegyenlített viszonyok, kiváló évjárat) valamint 2014 (rendkívül gyenge évjárat az érési időszak rendkívül csapadékos időjárása miatt) évjáratok termésadatai és a borminőségek közötti szignifikáns különbségeket a vizsgálati eredményeink jól demonstrálták. A borok érzékszervi bírálata során tapasztalt negatív hatások a 2013-as évben voltak a legmarkánsabbak. A borok

emelkedett szerves sav és polifenol tartalma volt felelős a BN fertőzött termés borának savas valamint keserű ízérzetért. Ezen bor tételek alacsonyabb cukortartamú mustból készültek, így alkohol tartalmuk is alacsonyabb volt. A rózsaszín (pink) elszíneződés, főként a 2013-as év BN fertőzött boraiban, súlyos borhibának tekinthető, amely jelentősen csökkentheti e borok paci értékét.

Összefoglalásként elmondható, hogy a BN fertőzés hatására kialakuló tőkénkenti termésmennyiségben, fűrtszámban és a bogyótömegben bekövetkezett termésnövekedés és az évjárat között szignifikáns összefüggés van. Azaz a BN okozta negatív hatás mértéke erősen függ az adott év hőmérsékleti és csapadékbeli viszonyaitól. A szőlő számára kedvezőtlen években (csapadékos és hűvösebb) a BN betegség hatásai maszkírozódnak. A BN kórokozója által fertőzött tőkék vegetatív és reprodukív teljesítménye, valamint a borminőség csökken, ezáltal a szőlőültetvény gazdaságos fenntarthatósága számottevően visszaesik.

3.3. A 'Ca. P. solani'-fertőzött szőlő tőkék gyógyítására irányuló kezelések

A BN betegségben szenvedő szőlőtőkék gyógyításra irányuló, három éves kísérletet állítottunk be egy Chardonnay ültetvényben az Egri borvidéken. A vizsgálatban a glutation és oligoszacharid, valamint a benzotiadiazol aktív hatóanyagú szereket alkalmaztunk 3 éven át (2012-2014). Rövid távú gyógyulás volt tapasztalható mind a két szer alkalmazása során, azonban a kezeletlen kontrollnál hasonló méretben tapasztaltunk természetes gyógyulást. A legmagasabb gyógyulási százalékot rövid-távon (1 év) a glutation és oligoszacharid hatóanyaggal való kezelés eredményezte, ezt követte a kezeletlen kontroll, majd a benzotiadiazol. A szerek hosszabb távú (a gyógyulás utáni 2, 3, és 4 tünetmentes év) hatása eddig nem volt kimutatható. A szerek fitotoxikus hatását nem figyeltünk meg. A kezelések hosszabb távon fejthetik ki gyógyító hatásukat, ezért fontos feladatunk a következő években az alkalmazott kezelések hatásának a megfigyelése.

4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Elsőként bizonyítottuk komplex módon a '*Candidatus Phytoplasma solani*' okozta Bois noir betegség szignifikánsan negatív hatásait a szőlő vegetatív és reprodukzív teljesítményére, valamint a termés beltartalmi mutatóira, Chardonnay fajtán az Egri borvidéken (Magyarország).
2. Elsőként bizonyítottuk, hogy a '*Ca. P. solani*' okozta Bois noir betegség negatívan befolyásolja a bor minőségét Chardonnay fajta esetében az Egri borvidéken (Magyarország).
3. Bizonyítottuk, hogy a BN fertőzés hatására kialakuló tőkénkénti termésmennyiségben, fűrtszámban és a bogyótömegben bekövetkezett termésnövekedés és az évjárat között szignifikáns összefüggés van.
4. '*Ca. P. solani*' törzsek genetikai diverzitásának vizsgálatára alkalmas két új háztartási gént kódoló markert fejlesztettünk: a *yidC* (sejt membrán fehérje integrációs rendszer egyik fehérjét kódoló gén) és *ligA* (NAD(+)-függő DNS ligáz kódoló gén) markerek megfelelő variabilitásuk miatt alkalmazhatóak a multi lókuszos szekvencia-alapú molekuláris jellemzésre.
5. Elvégeztük a magyarországi '*Ca. P. solani*' izolátumok diverzitásának vizsgálatát *tuf*, *secY*, *yidC*, *vmp1* and *stamp* gének alapján. Vizsgálatainkkal bizonyítottuk a következő genotípusok hazai borvidékeken való jelenlétét. *Tuf*: *tuf*-b1 és *tuf*-b2; *secY*: S1, S4 és S6; *vmp1*: V2, V9, V13 és V18; *stamp*: ST6 (IV csoport), ST4, ST9 és ST9D (II csoport), és szórványosan az ST13 és ST22 (III csoport). A szőlő növényen leggyakrabban előforduló genotípusok az S6/V18/ST6, S1/V2/ST4 és S1/V2/ST9 voltak.
6. Magyarországon elsőként bizonyítottuk a '*Ca. P. solani*' fertőzést levendulán (*Lavandula angustifolia*). Elsőként mutattunk ki '*Ca. P. solani*' fertőzést árvacsalánból (*Lamium purpureum*) és mezei szilvből (*Ulmus minor*).
7. Átviteli kísérlettel elsőként bizonyítottuk, hogy a *Hyalesthes obsoletus* képes '*Ca. P. solani*' ST4 (II csoport) *stamp* genotípust, a *Reptalus quinquecostatus* kabóca pedig az ST13 (III csoport) *stamp* genotípus Madagaszkári rózsameténgre táplálkozása során átvinni.
8. Elsőként bizonyítottuk, hogy a '*Ca. P. solani*' *stamp* I csoportba tartozó törzs ellen előállított 2A10 monoklonális antitest alkalmas a *stamp* II, III és IV csoportok szerológiai kimutatására.
9. Rovar fehérje és '*Ca. P. solani*' membránfehérje (STAMP fp_ST4 és fp_ST9) közötti kapcsolatok vizsgálata során bizonyítottuk a STAMP II csoport (fp_ST4 és fp_ST9) a *H. obsoletus* (apró szulák ökotípus), valamint a *R. quinquecostatus* fajok között létrejövő kapcsolatot. Ezzel elsőként bizonyítottuk a '*Ca. P. solani*' STAMP és kabóca közötti *in vitro* interakciót.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A '*Ca. P. solani*' törzs jellemzők megbízhatóságának növelése érdekében új MLST markert fejlesztettünk. Ezek közül a *yidC* gén mellett megfelelő variabilitása miatt a *ligA* is alkalmas lehet genetikai diverzitás vizsgálatokra, amely gén alkalmazhatóságát nagyobb számú törzs vizsgálatával lehetne megerősíteni.

A magyarországi '*Ca. P. solani*' izolátumok genotipizálásának eredményeként járványtanilag hasznos információkhoz juthatunk, amely alapján megállapíthatók a fertőzési források és nyomon követhető a kórokozó terjedése, ezáltal feltérképezhető a BN betegség okozta kockázat egy adott ültetvényben/területen/borvidéken. Hazánkban a szőlő a S6/V18/ST6 genotípus komplex (Európában ezek a csalánon előforduló genotípusok) fordult elő leggyakrabban, amit az S1/V2/ST4 és S1/V2/ST9 (Európában ezek az apró szulákon előforduló genotípusok) követett. Az apró szulák szerepét a S1/V2/ST4 és S1/V2/ST9 genotípusok szőlőre történő terjesztésében igazoltuk. Európai és a hazai eredmények alapján is feltételezhető, hogy a S6/V18/ST6 szőlőre történő terjedésében a nagy csalán és a piros árvacsalán -mint fertőzési forrás- fontos lehet. Azonban e növények járványtanban betöltött szerepét hazai körülmények között is meg kell erősíteni. A *stamp* ST13 genotípus jelenléte szőlőn, amely genotípus *R. quinquecostatus* általi átvitelét bizonyítottuk madagaszkári rózsameténgre, arra utal, hogy e kabócafaj is kompetens vektora lehet a '*Ca. P. solani*' kórokozónak szőlőn.

A hazai '*Ca. P. solani*' törzsek magas fokú variabilitása a polifág vektorok és különböző fitoplazma rezervoár növények szerepét és jelentőségét támasztja alá a fertőzés terjedésében. Továbbá arra utal, hogy e kórokozó széleskörű elterjedése nem szaporítóanyaggal történt, mivel szaporítóanyaggal történő behurcolás esetén alacsonyabb genetikai variabilitással találkozhatunk. A szőlőn nagy arányban kimutatott, a nagy csalánhoz köthető genotípusok jelenléte e fitoplazma gazdanövény elsődleges szerepére (fő fertőzési forrás) utal. Emellett az apró szulák, mint másik fontos, azonban kisebb jelentőséggel bíró gazdanövény szerepelt. Sajnos kevés információ áll rendelkezésre arról, hogy a hazai *H. obsoletus* populációk valamint a nagy csalán rezervoárok mely '*Ca. P. solani*' genotípusokat hordozzák, ezért további vizsgálatok szükségesek más ültetvényekben/régiókban e járványtani információk megszerzésére.

A '*Ca. P. solani*' STAMP (II csoport) és rovar fehérje között *in vitro* kapcsolatot igazoltuk. Annak érdekében, hogy e vizsgálatokat kiegészítsük, azaz a különböző csoportba tartozó STAMP(ok) és különböző kabóca fajok közötti interakció mértékét vizsgálhassuk, a *stamp* III (fp_ST6) és IV (fp_ST13) csoportba tartozó rekombináns STAMP fehérjéket előállítottuk.

Különböző faktorok, mint a fajta élettartama, a hektáronkénti tőszám, vagy a fitoplazmás növények száma az ültetvényben befolyásolja a BN betegségben szenvedő ültetvény

produktivitását, valamint hatással van a termesztő döntésére abban, hogy hogyan kezelje (eltávolítsa vagy sem) a beteg tőkékét. Pavan és mtsai (2012) szerint -annak ellenére, hogy a BN egy krónikus betegség- a fertőzött tőkék (Chardonnay fajta esetén) megtartása az ültetvényben gazdaságosabb, mint eltávolításuk. Más részről, a jelentős termés kiesés és minőségromlás azt a döntést támasztja alá, hogy a beteg tőkék eltávolítása az ültetvényből indokolt (Garau *et al.* 2007, Endeshaw *et al.* 2012, Rusjan *et al.* 2012). Vizsgálatainkkal számottevő terméscsökkenés mellett jelentős minőségbeli romlást igazoltunk Chardonnay fajtán a hazai klimatikus viszonyok között. Ez alapján kijelenthető, hogy e mennyiségi és minőségi tényezők változása negatívan befolyásolja a beteg növényeket tartalmazó szőlőültetvény gazdaságos fenntartását. A vektorokkal kapcsolatban elmondható, hogy klimatikus változások rövid és hosszú távon is megváltoztathatják számos rovar faj viselkedését, biológiai ciklusát (Boudon-Padieu and Maixner 2007). Magasabb hőmérsékleten a fitoplazmák felszaporodás a rovarban és/vagy a gazdanövényekben eredményesebb, ami a magasabb kórokozó koncentrációt és a betegség tüneteinek korábbi és/vagy súlyosabb megjelenését okozhatja (Foissac and Wilson 2010, Salar *et al.* 2013). Az említett tényezők együttesen befolyásolják a 'Ca. P. solani' fertőzött tőkék tartalmazó ültetvény fenntarthatóságát. A BN a termés és a bor minőségre gyakorolt negatív hatásai hangsúlyosabban jelentkeztek abban az évben, amikor az időjárási viszonyok a legoptimálisabbak voltak a szőlő számára. A negatív hatások maszkírozódtak a hűvösebb, csapadékosabb években, ami azt sugallja, hogy a szélsőséges időjárási körülményektől mentes ültetvények/térségek jobban ki vannak téve a BN negatív hatásainak. Azonban ezek a feltételezések további megerősítést kívánnak. Számos borvidéken a termés betakarítása gépi szürettel történik, amely során a beteg fürtök kiválogatása nem megoldott. Mivel a szőlőtermesztésben a legfontosabb cél a minőségi termés előállítása, megfelelő mennyiség mellett, ezért a BN beteg tőkék eltávolítása az ültetvényből megalapozottan tanácsolható. Különböző 'Ca. P. solani' genotípusok eltérő módon hathatnak a szőlő fajtákra, ezért fontos cél, hogy meghatározzuk mely 'Ca. P. solani' genotípusok fordultak elő a vizsgált, egri Chardonnay kísérleti ültetvényben, valamint további borvidékeinken.

A BN és az FD (az egyetlen, szőlőn karatén státuszú fitoplazmás betegség Európában) azonos tüneteket okoz. A BN beteg tőkék jelenlétükkel maszkírozhatják a FD betegség megjelenését és időben történő felismerését a hazai ültetvényekben. Ezért fontos lenne felmérni a BN betegség hazai elterjedését, és vizsgálni a betegség hatásait további szőlő fajtákon. Egy hatásos betegség elleni kezelés kidolgozása érdekében fontos lenne folytatni a 'Ca. P. solani' törzsek genetikai diverzitásának, valamint a STAMP-rovar fehérje kapcsolatok vizsgálatait, és a rezisztencia fokozókkal való védekezési kísérletet.

6. FELHASZNÁLT IRODALOM

1. Bertin, S., Picciau, L., Ács, Z., Alma, A., Bosco, D. (2010): Molecular identification of the *Hyalesthes species* (Hemiptera: Cixiidae) occurring in vineyard agroecosystems. *Ann. Appl. Biol.*, 157 435-445. p.
1. Boudon-Padieu, E. and Maixner, M. (2007): Potential effects of climate change on distribution and activity of insect vectors of grapevine pathogens. *Réchauffement climatique, quels impacts probables sur les vignobles*, 28-30 mars 2007, 1-8. p.
2. Caudwell, A. (1961): Etude sur la maladie du bois noir de la vigne: ses rapports avec la Flavescence dorée. *Annales Epiphyties*, 12 (3) 241-262. p.
3. Clair, D., Larrue, J., Albert, G., Gillet, J., Cloquemin, G., Boudon-Padieu, E. (2003): A multiplex nested-PCR assay for sensitive and simultaneous detection and direct identification of phytoplasma in the Elm yellows group and Stolbur group and its use in survey of grapevine yellows in France. *Vitis*, 42 151-157. p.
4. Coombe, B.G. (1995): Adoption of a system for identifying grapevine growth stages. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 1 188-212. p.
5. Cvrković, T., Jović, J., Mitrović, M., Krstić, O., Toševski, I. (2013): Experimental and molecular evidence of *Reptalus panzeri* as a natural vector of Bois noir. *Plant Pathology*, 63 42-53. p.
6. Deng, S. and Hiruki, C. (1991): Amplification of 16S rRNA genes from culturable and non-culturable Mollicutes. *Journal of Microbiology Methods*, 14 53-61. p.
7. Elekesné Kaminszky, M., Orosz, A., Barasits, T., Csörnyei, K., Cziklin, M., Dulinafka, GY., Gál, SZ., Györffy, M.J., Havasréti, B., Szendrey, G., Tóth, B., Varga, M., Vörös, G., Alma, A., Palermo, S. (2006): Szőlő sárgaságot (grapevine yellows) okozó fitoplazmával fertőzött ültetvények kabóca faunájának monitoring vizsgálata. *Növényvédelem*, 42 177-193. p.
8. Endeshaw, S.T., Murolo, S., Romanazzi, G., Neri, D. (2012): Effects of Bois noir on carbon assimilation, transpiration, stomatal conductance of leaves and yield of grapevine (*Vitis vinifera*) cv. Chardonnay. *Physiologia Plantarum*, 145 286-295. p.
9. Fabre, A., Danet, J.L., Foissac, X. (2011): The stolbur phytoplasma antigenic membrane protein gene STAMP is submitted to diversifying positive selection. *Gene*, 472 37-41. p.
10. Foissac, X. and Wilson, M.R. (2010): 17. Current and Future Distributions of Phytoplasma. 309-324. p. In: Weintraub, P.G. and Jones, P. (Eds.) *Phytoplasmas: genomes, plant hosts and vectors*. Wallingford, UK: CAB International.
11. Foissac, X., and the Stolbur Euromed Consortium: Fabre, A., Ember, I., Della Bartola, M., Plavec, J., Avramov, Z., Mortada, C., Eroglu, S., Balakishiyeva, G., Acs, Z., Baric, S., Batlle, A., Bouyahia, H., Carle, P., Chireceanu, C., Choueiri, E., Cvrkovic, T., Danet, J.L., Ertunc, F., Guionneau, K., Huseynova, I., Jreijiri, F., Jovic, J., Katis, N., Kostadinovska, E., Krizanac, I., Krjanjic, S., Lavina, A., Maliogka, V., Mammadov, A.C., Materazzi, A., Murolo, S., Oancea, F., Omar, A. F., Pacifico, D., Romanazzi, G., Sabate, J., Safarova, D., Sahin, F., Salar, P., Skoric, D., Valova, P., Viorel, F., Zahavi, T., Johannesen, J., Kolber, M., Maixner, M., Marzachi, C., Navratil, M., Seruga-Music, M., Tosevski, I. (2013): 'Candidatus Phytoplasma solani' genome project and genetic diversity in the Euro-Mediterranean basin. In: *3rd European Bois Noir workshop proceedings*, Invited lecture, March 20-21, 2013. Barcelona, Spain.
12. Fos, A., Danet, J.L., Zreik, L., Garnier, M., Bove, J.M. (1992): Use of monoclonal antibody to detect the stolbur mycoplasma like organism in plants and insects and to identify a vector in France. *Plant Disease*, 76 1092-1096. p.
13. Galetto, L., Bosco, D., Balestrini, R., Genre, A., Fletcher, J., Marzachi, C. (2011): The major antigenic membrane protein of 'Candidatus Phytoplasma asteris' selectively interacts with ATP synthase and actin of leafhopper vectors. *PLoS ONE*, 6(7) e22571.

14. Garau, R., Sechi, A., Prota, V.A., Moro, G. (2007): Productive parameters in Chardonnay and Vermentino grapevines infected with “Bois noir” and recovered in Sardinia. *Bulletin of Insectology*, 60 233-234. p.
15. Kölber, M., Ember, I., Varga, K., Botti, S., Martini, M., Lázár, J., Bertaccini, A. (2003): Six-year survey of grapevine yellows distribution in Hungary. 99-100. p. In: *Abstract book of 14th Meeting of ICVG*, 12-17th September, 2003, Locorotondo, Italy.
16. Kollar, A., Seemüller, E., Bonnet, F., Saillard, C., Bové J.M. (1990): Isolation of the DNA of various plant pathogenic mycoplasma-like organisms from infected plants. *Phytopathology*, 80 (3) 233-237. p.
17. Langer, M. and Maixner, M. (2004): Molecular characterisation of grapevine yellows associated phytoplasmas of the stolbur-group based on RFLP-analysis of non-ribosomal DNA. *Vitis*, 43 191-200. p.
18. Lee, I.M., Zhu, S., Gundersen, D.E., Zhang, C., Hadidi, A. (1995): Detection and identification of a new phytoplasma associated with cherry lethal yellows in China. *Phytopathology*, 85 1179. p.
19. Maixner, M. (2011): Recent advances in Bois noir research. 17-32. p. In: *Abstract book of 2nd BN Workshop*, 27 February - 1 March 2011; Castelbrando Cison di Valmarino (TV) Italy. Padova, Italy: Coop. Libreria Editrice Università di Padova.
20. Maixner, M. and Mori, N. (2013): Management of Bois noir through vector control. 45-47. p. In: Torres, E., Lavina, A., Jarausch, W., Bertaccini, A (Eds.): *New Perspectives in Phytoplasma Disease Management. Book of abstracts of COST action FA 0807 Workshop*; 22 March 2013, Barcelona, Spain.
21. Osler, R., Carraro, L., Loi, N., Refatti, E. (1993): Symptom expression and disease occurrence of a yellows disease of grapevine in north-eastern Italy. *Plant Disease*, 77 496-498. p.
22. Pavan, F., Mori, N., Bressan, S., Mutton, P. (2012): Control strategies for grapevine phytoplasma diseases: factors influencing the profitability of replacing symptomatic plants. *Phytopathologia Mediterranea*, 51 11-22. p.
23. Romanazzi, G., d’Ascenzo, D., Murolo, S. (2009): Field treatment with resistance inducers for the control of grapevine Bois noir. *J. Plant Pathol.*, 91 677–682. p.
24. Romanazzi, G., Murolo, S., Feliziani, E. (2013): Effects of an innovative strategy to contain grapevine Bois noir: field treatment with resistance inducers. *Phytopathology*, 103 785-791. p.
25. Rusjan, D., Veberič, R., Mikulič-Petkovšek, M. (2012): The response of phenolic compounds in grapes of the variety “Chardonnay” (*Vitis vinifera* L.) to the infection by phytoplasma Bois noir. *European Journal of Plant Pathology*, 133 965-974. p.
26. Salar, P. Charenton, C., Foissac, X., Malembic-Maher, S. (2013): Multiplication kinetics of Flavescence dorée phytoplasma in broad bean. Effect of phytoplasma strain and temperature. *European Journal of Plant Pathology*, 135 371-381. p.
27. Smart, C.D., Schneider, B., Blomquist, Ç.L., Guerra, L.J., Harrison, N. A., Ahrens, U., Lorenz, E., Seemüller, K.H., Kirkpatrick, B.C. (1996): Phytoplasma-specific PCR primers based on sequences of the 16S-23S rRNA spacer region. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62 2988-2993. p.
28. Suzuki, S., Oshima, K., Kakizawa, S., Arashida, R., Jung, H.Y., Yamaji, Y., Nishigawa, H., Ugaki, M., Namba, S. (2006): Interactions between a membrane protein of a pathogen and insect microfilament complex determines insect vector specificity. *PNAS*, 103 4252-4257. p.
29. Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S. (2011): MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28 2731–2739. p.

7. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

Impakt faktoros közlemény:

Palermo, S., Elekes, M., Botti, S., **Ember I.**, Alma, A., Orosz, A., Bertaccini, A., Kölber, M. (2004): Presence of stolbur phytoplasma in *Cixiidae* in Hungarian vineyard. *Vitis*, 43 (4): 201-203.

Lektorált folyóiratban megjelent közlemények:

Ember, I., Bodor, P., Pájer, E., Bálo, B., Zsófi, Zs., Fazekas, I., Palkovics, L., Hunter, J.J., Bisztray, Gy.D. (2014): A Bois noir betegség hatása a *Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay termék mennyiségére és minőségére. *Kertgazdaság*, 46 (4): 17-26.

Szegedi, E., **Ember, I.**, Bisztray, Gy.D., Dula, B., Hajdu, E., Kölber, M., Lázár, J., Nagy, B., Szűcsné, V. G. (2012): Mentésítési és diagnosztikai módszerek integrálása az egészséges szőlőszaporítóanyag előállításában. *Növényvédelem*, 48 (10): 469-480.

Osztálylistás folyóiratban megjelent közlemények:

Ember, I., Bodor, P., Zsófi, Zs., Pálfi, Z., Czigány, B, Pásti, Gy., Kölber, M., Bálo, B., Fazekas, I., Palkovics, L., Bisztray, Gy.D. (2015): Bois noir okozta károk Chardonnay fajtán, a fitoplazmák elleni lehetséges védekezési technológia alkalmazása szőlőben. *Borászati Füzetek (Külön kiadvány)*, 102-104.

Czotter, N., Szűcsné Varga, G., Manduláné Farkas, E., Lózsa, R., **Ember, I.**, Várallyay, É., Szegedi, E. (2015): Primers designed for the detection of grapevine pathogens spreading with propagating material by quantitative real-time PCR. *International Journal of Horticultural Science*, 21 (1-2): 21-30.

Manduláné Farkas, E., Czotter, N., Lózsa, R., Dula, T., **Ember, I.**, Várallyay, É., Szegedi, E. (2014): Conventional PCR primers for the detection of grapevine pathogens disseminated by propagating material. *International Journal of Horticultural Science*, 20 (3-4): 69-80.

Egyéb tudományos közlemények:

Ember, I., Ács, Z., Kölber, M. (2012): A szőlőn súlyos károkat okozó fitoplazmás betegségek. *Agrofórum Extra*, 46: 10-17.

Fánová, J., Prybylová, M., Navrátil, M., Safárová, D., **Ember, I.**, Kölber, M., Süle, S., Cieslinska, M., Kaminska, M. (2014): Phytoplasma disease and their vectors in Czech Republic, Hungary and Poland. In Bertaccini A. (eds) *Phytoplasmas and phytoplasma disease management: how to reduce their economic impact*, Food and Agriculture COST Action FA0807, 29-35.

Lózsa, R. és **Ember, I.** (2013): A szőlő gazdasági károkat okozó vírusos- és fitoplazmás betegségei. 2013. *Őstermelő*, 2013/5, pp. 72-73.

Konferencia összefoglalók:

Ember, I., Bodor, P., Zsófi, Zs., Pálfi, X., Villangó, Sz., Pálfi, Z., Ladányi, M., Pásti, Gy., Szekeres, A., Bencsik, O., Deák, T., Bálo, B., Palkovics, L., Foissac, X., Hunter, J.J., Bisztray, Gy.D. (2016): Impact of Bois noir disease on grapevine performance and wine quality. *Mitteilungen Klosterneuburg (Supplement)*, 66:1, 79-83.

Ember, I., Desque, D., Danet, J.L., Dubrana, M.P., Duret, S., Beven, L., Palkovics, L., Bisztray, Gy.D., Foissac, X. (2016): Heterologous expression and antigenicity of Antigenic Membrane

Proteins STAMP from different '*Candidatus Phytoplasma solani*' genetic clusters. *Mitteilungen Klosterneuburg (Supplement)*, 66:1, 40-45.

Fabre, A., Balakishiyeva, G., **Ember, I.**, Omar, A., Acs, Z., Kölber, M., Kauzner, L., Della Bartola, M., Danet, J.L., Foissac, X. (2011): *Stamp* encoding the antigenic membrane protein of Stolbur phytoplasma is useful for molecular epidemiology. *Bulletin of Insectology (Supplement)*, 64: 21-22.

Ember, I., Acs, Z., Salar, P., Danet, J.L., Foissac, X., Kölber, M., Malembic-Maher, S. (2011): Survey and genetic diversity of phytoplasmas from the 16SrV-C and -D subgroups in Hungary. *Bulletin of Insectology (Supplement)*, 64: 33-34.

Ember, I., Bodor, P., Zsófi, Zs., Bálo, B., Kölber, M., Fazekas, I., Palkovics, L., Bisztray, Gy.D. (2015): Bois noir betegség elleni védekezési technológia lehetséges alkalmazása rezisztenciát fokozó készítményekkel. *Szőlőtermesztési és Borászati Tudományos Konferencia*, 2015. június 30., Budapest, p.38.

Ember, I., Czigány, B., Bodor, P., Zsófi, Zs., Pálfi, Z., Fazekas, I., Pásti, Gy., Bálo, B., Palkovics, L., Bisztray, Gy.D. (2015): Bois noir betegség okozta károk Chardonnay szőlő fajtán. *Szőlőtermesztési és Borászati Tudományos Konferencia*, 2015. június 30., Budapest, p.37.

Ember, I., Bodor, P., Pájer, E., Fazekas, I., Bálo, B., Zsófi, Zs., Palkovics, L., Hunter, J.J., Bisztray, Gy.D. (2014): Impact of '*Candidatus phytoplasma solani*' caused Bois noir disease on the generative performance of *Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay in Hungary. *COST ACTION FA1106 3rd Qualityfruit Annual Meeting*, Crete, Greece, 21-24thSeptember 2014.

Ember, I., Bodor, P., Czigány, B., Fazekas, I., Pásti, Gy., Bálo, B., Zsófi, Zs., Palkovics, L., Hunter, J.J., Bisztray, Gy. D. (2014): A Bois noir betegség okozta károk Chardonnay szőlőfajtán. *61. Növényvédelmi Tudományos Napok*, Budapest, Magyarország, p. 88.

Ember, I., Kölber, M., Bodor, P., Danet, J.L., Bisztray, Gy. D., Foissac X. (2014): Magyarországi '*Candidatus Phytoplasma solani*' törzsek genetikai Jellemzése tuf, *secY* és *stamp* gének alapján. *60. Növényvédelmi Tudományos Napok*, Bp. p.62.

Ember, I., Acs, Z., Nagy, Z., Gergely, L., Kölber, M. (2010): Magyarországi Stolbur izolátumok jellemzése. *56. Növényvédelmi Tudományos Napok*, Budapest, Magyarország.

Ember, I., Kölber, M., Bodor, P., Danet, J.L., Bisztray, Gy. D., Foissac X. (2014): Magyarországi '*Candidatus Phytoplasma solani*' törzsek genetikai Jellemzése tuf, *secY* és *stamp* gének alapján. *60. Növényvédelmi Tudományos Napok*, Bp. p.62.

Ember, I., Salar, P., Danet, J.L., Foissac, X., Kölber, M., Bisztray, Gy.D., Malembic-Maher, S. (2014): A szőlőt károsító 16Sr V-C és D alcsoportba tartozó fitoplazmák hazai felderítése és genetikai jellemzése vad rezervoár növényeken. *60. Növényvédelmi Tudományos Napok*, Budapest, p.62.

Škorić, D., **Ember, I.**, Acs, Z., Kölber, M., Budinščak, Ž., Plavec, J., Šeruga-Musić, M., Križanac, I. (2011): Insects in the Bois Noir pathosystems of neighbouring viticulture regions along Croatian-Hungarian state border. *2nd BN Workshop, Castelbrando*, Italy, p. 109.

Tudományos könyvrészlet:

Ember, I. (2016): *In Bisztray Gy.D. and Bodor P. eds. Wine Terroirs and Grape Cultivars in Hungary. North Transdanubian terroirs (41-49), South Transdanubian terroirs (51-57).* Szent István University, Budapest, Hungary.