

PANNON EGYETEM GEORGIKON KAR

FESTETICS DOKTORI ISKOLA

Iskolavezető:

Dr. habil. Anda Angéla

egyetemi tanár, az MTA doktora

Témavezető:

Dr. Kocsis László

egyetemi tanár, az MTA doktora

A SZŐLŐVESSZŐ MORFOLÓGIAI FELÉPÍTÉSE ÉS A *BOTRYTIS*
CINEREA JELENTŐSÉGE, VALAMINT KÖRNYEZETKÍMÉLŐ MEGOLDÁSOK
A SZŐLŐ SZAPORÍTÓANYAG ELŐÁLLÍTÁSBAN

Doktori (PhD) Értekezés

DOI:10.18136/PE.2020.732

Készítette:

Farkas Bernadett

Keszthely

2020

A SZŐLŐVESSZŐ MORFOLÓGIAI FELÉPÍTÉSE ÉS A *BOTRYTIS CINEREA* JELENTŐSÉGE, VALAMINT KÖRNYEZETKÍMÉLŐ MEGOLDÁSOK A SZŐLŐ SZAPORÍTÓANYAG ELŐÁLLÍTÁSBAN

Az értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében készült a Pannon Egyetem Fesztetics Doktori Iskolája keretében

Növénytermesztési és Kertészeti tudományágban

Írta: Farkas Bernadett

Témavezető: Dr. Kocsis László

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

.....
témavezető

A jelölt a doktori szigorlaton %-ot ért el,
Keszthely,

.....
a Szigorlati Bizottság elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom:

Bíráló neve: igen /nem

.....
bíráló

Bíráló neve: igen /nem

.....
bíráló

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján%-ot ért el.

Keszthely,

.....
a Bíráló Bizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése.....

Keszthely,

.....
az EDHT elnöke

Édesapám emlékének.

Tartalom

1	KIVONATOK	7
1.1	Kivonat.....	7
1.2	Abstract	8
1.3	Auszug	9
2	BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK	11
2.1	Bevezetés.....	11
2.2	Célkitűzések.....	12
3	IRODALMI ÁTTEKINTÉS	13
3.1	A szőlő szaporítóanyag előállítás jellemzői	13
3.1.1	A szőlő szövettani jellemzői.....	20
3.2	A <i>Botrytis cinerea</i> jelentősége.....	21
3.3	Alternatív védekezési lehetőségek.....	31
3.3.1	UV-C fényvel történő kezelés.....	31
3.3.2	Növényi kivonatok hatása	33
4	ANYAG ÉS MÓDSZER	37
4.1	Szövettani vizsgálatok	37
4.1.1	A szőlővessző morfológiája	37
4.1.2	A szőlővessző anatómiája.....	39
4.2	A kórokozó vizsgálata	42
4.2.1	Telepmorfológiai vizsgálatok.....	43
4.2.2	Mikroszatellit vizsgálatok	44
4.3	<i>Botrytis cinerea</i> elleni alternatív védekezési lehetőségek	45
4.3.1	UV-C hullámhosszúságú fény hatása.....	45
4.3.2	Növényi kivonatok hatása	48
4.4	Az adatok statisztikai értékelése	49
5	EREDMÉNYEK.....	51
5.1	Szőlővessző felépítése	51
5.2	<i>Botrytis cinerea</i> telepmorfológiai vizsgálatok eredménye.....	56
5.3	Mikroszatellit vizsgálatok eredménye	62
5.4	Alternatív védekezési lehetőségek.....	64
5.4.1	UV-C sugárzás hatása	64
5.4.2	Növényi kivonatok hatása – 1. vizsgálat.....	68

5.4.3	Növényi kivonatok hatása – 2. vizsgálat.....	73
6	EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE	77
7	ÖSSZEFOGLALÁS	79
8	TÉZISPONTOK	81
8.1	Tézispontok	81
8.2	Thesis points.....	82
9	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	83
10	FELHASZNÁLT IRODALOM	85
11	MELLÉKLETEK.....	97

1 KIVONATOK

1.1 Kivonat

A szőlő szaporítóanyag előállítás folyamatának vessző tárolási és előhajtási szakaszában a polifág *Botrytis cinerea* kórokozó gomba kártétele jelentős veszteséget okozhat. A jelenlegi szabályozásnak megfelelően nem áll rendelkezésre olyan fungicid, mellyel a protokoll szerinti vesszőáztatást el lehetne végezni. A kötegekben vagy a hajtatóládákban kialakult fertőzési góc nagyszámú oltványt képes továbbfertőzni, veszélyeztetve ezzel a növényanyag egészségét és a megfelelő oltványkészítési kihozatalt. A felvázolt helyzet megoldására való törekvés alapján megfogalmazódott az igény olyan készítmények kifejlesztésére, valamint eljárások kidolgozására, melyek környezetbarát és egészségre ártalmatlan jellemzőik mellett kellő hatékonysággal bírnak a tárolás és előhajtás időszakában fellépő gombakórokozók elleni védekezésben.

A kórokozón kívül a szőlővessző állapota is felelős a fertőződés kialakulásáért. A szöveti felépítés, valamint a fajták közötti szöveti eltérések megértése választ adhat a betegség megjelenésére és a károsítás mértékére a tárolóhelyiségben.

A Pannon Egyetem Georgikon Karának Kertészeti Tanszékén 2013-ban kezdtük el vizsgálatainkat a szőlővesszők felépítésével, a *Botrytis cinerea* megfigyelésével és az alternatív védekezési eljárásokkal kapcsolatban.

Megvizsgáltuk a szőlőfajták vesszőinek szerkezeti jellemzőit. Leírást adtunk 15 alany- és 5 nemes fajta keresztmetszetének szöveti felépítéséről.

Új nevezéktant készítettünk az oltás szempontjából kulcsfontosságú vesszőoldalak elnevezésére.

Botrytis cinerea minták fejlődését vizsgáltuk eltérő környezeti körülmények között. Megállapítottuk, hogy a hőmérsékleten kívül a kórokozó területi specifikussága is jelentős szerepet játszhat az előhajtató helyiségben létrejövő fertőzési gócok kialakulásában.

In vitro kísérletekben az UV-C fényvel történő kezelés és növényi kivonatok *Botrytis cinerea* fejlődésére gyakorolt hatását vizsgáltuk, és igazoltuk hatékonyságukat.

1.2 Abstract

The most important plant pathology problem during the propagation of propagating material is the *Botrytis cinerea* polyphagous fungi against which there is not any solution in the pre-forcing period. There is a need for improve a protocol to prevent the damage of this fungal infection which is eco-friendly and harmless to the human health.

Additionally, shall have substantial knowledge about the tissue structure of the grapevine cane because of the complexity of the infection process of *B. cinerea*. Grapevine canes of fifteen rootstock and five noble cultivars were collected and analyzed than described histologically. Novel nomenclature was draw up for naming the cane sides which are key points in the grafting procedure.

Isolates of *B. cinerea* were observed in different environmental conditions. We established the sensitivity on the temperature and, in addition, the habitat specificity of the pathogen. These characteristics can play an important role in the development of the disease outbreak in the pre-forcing room.

The effect of the UV-C light, plant extracts, and slumgum boiling liquid was tested against the development of the pathogen, *in vitro*, and the effectiveness of the treatments was proved.

1.3 Auszug

Die wichtigste Pflanzenpathologie Problem während der Pflanzguterzeugung ist der *Botrytis cinerea* polyphagen Pilze, gegen die es keine Lösung in der Vortreiben der Veredlungen ist. Es besteht ein Bedarf für ein Protokoll zur Verbesserung des Schadens dieser Pilzinfektion zu verhindern, die umweltfreundlich ist und daneben es ist harmlos für die menschliche Gesundheit.

Zusätzlich wird wesentliche Kenntnisse über die Gewebestruktur des Rebholz aufgrund der Komplexität des Infektionsprozesses von *B. cinerea* haben. Weinrebe Stöcke von fünfzehn Unterlagensorten und fünf Edelsorten wurden gesammelt und analysiert als histologisch beschrieben. Neuartige Nomenklatur war für die Benennung der Rohrseiten erstellen, die wesentliche Punkte in den Transplantationsverfahren sind.

Isolaten von *B. cinerea* wurden in verschiedenen Umgebungsbedingungen untersucht. Wir haben die Temperaturempfindlichkeit und zusätzlich die Habitat-Spezifikation des Pathogens festgestellt. Diese Eigenschaften können eine wichtige Rolle bei der Entwicklung des Krankheitsausbruches in dem Vortreibraum spielen.

Die Wirkung der UV-C-Licht, Pflanzenextrakte und slumgum siedende Flüssigkeit wurde gegen die Entwicklung des Pathogens in vitro getestet, und die Wirksamkeit der Behandlungen wurde nachgewiesen.

„Azt gondolja a természetet nem esmérő ember, hogy a penész csak valami rusnya por és pelyhes nyálkásság, melly a romlásnak és rothadásnak következése... Holott mindaz, ami nekünk ilyennek látszik, egynehány ezer apró plántákból össze csoportozott erdőcske, amellynek gyökerei, szárai, ágai, virági és magvai vagynak, s amelyet jó nagyító üvegen szemlélni kibeszélhetetlen gyönyörűség.”

Csokonai Vitéz Mihály

2 BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

2.1 Bevezetés

A szőlő szaporítóanyag előállítás önálló szakmává nőtte ki magát, miután a 19. század végén fellépő szőlőgyökértetű (*Daktulosphaira vitifoliae* FITCH) járvány Európa szőlőültetvényeinek jelentős részét kipusztította. Több védekezési eljárás is sikertelennek bizonyult a rovar kártételével szemben, majd a kártevővel együtt élni képes, amerikai kontinensről származó szőlőalanyok alkalmazása vált általánossá. Ma már milliós nagyságrendben, üzemi körülmények között állítjuk elő a szőlőoltványokat, melyek biztonságos védekezést tesznek lehetővé e veszélyes rovarkártevő okozta kár megelőzésére.

Az egészséges, gazdaságilag rentábilis ültetvény létesítésére a mai piaci viszonyok között csak úgy van esély, ha – többek között - növényegészségügyi szempontból is kifogástalan a telepítendő növényi anyag. A szaporítóanyag előállítás folyamában számos ponton sérülhetnek a vesszők, kezdve a begyűjtéstől egészen az ültetvénybe történő kiültetésig. Az alanyvessző termesztése több módon is lehetséges, azonban a hajtások egyenes növekedése elsőrendű szempont. Sok esetben a talajon, vagy támrendszerre futtatva termesztik a fajtákat, majd az anyatókékról levágva az összekötegetelt alanyvesszőket a talajon húzva gyűjtik össze, és így fertőzési kaput nyitnak a kórokozók számára.

Az alanyvesszők talpalása, vakítása, méretre vágása, valamint a nemes vesszők egy rügyes oltócsapra való vágása után kerül sor az oltásra. Az oltványok összeforradásához elengedhetetlen a magas hőmérséklet és páratartalom, és így a hajtató helyiségben ideálisak a körülmények a gombakórokozók számára.

Legjelentősebb kórokozónak a szaporítóanyag előállítás folyamatában a *Botrytis cinerea*-t tartjuk, ez a gomba azonban – melynek anamorf alakja stílusosan szőlőfürtöt formáz – polifág, így számos növénykultúrában károsít (Glits és Folk, 2000). A károsító elleni védekezés kiemelt fontosságú. A fertőzödést hosszú időn keresztül fungicides áztatással előzték meg, azonban az Európai Unió jogszabályoknak megfelelően jelenleg nem áll rendelkezésre olyan készítmény, ami biztonsággal megóvja a növényi anyagot a pusztulástól, és így az oltványtermesztőt a jelentős anyagi veszteségtől.

A fertőződésre meghatározó hatással bír a tároló helyiségben alkalmazott technológia és higiénia, a páratartalom, a hőmérséklet, a fényviszonyok, valamint a növényanyag begyűjtés és tárolás alatt jellemző állapota. A gombakórokozók megjelenése ellen a vesszők áztatása bevált

módszer volt, így a forgalomból kivont hatóanyag helyett alternatív megoldások kidolgozására van szükség. Vizsgálatainkkal arra szeretnénk volna megoldást találni, hogy a szőlőültetvényben folyamatosan jelen lévő, csupán az ideális körülményekre váró *Botrytis cinerea* ellen kifejlesszünk egy eljárást. E célból kísérleteket állítottunk be UV-C fényvel, valamint még kiaknázatlan lehetőségeket rejtő növényi kivonatokkal.

A fertőződés folyamatának azonban nem csupán a kórokozó áll a háttérben, a fajták eltérő fogékonysággal rendelkeznek a betegségekkel szemben. Általában a vegetációs idő alatt lezajló folyamatok állnak a fókuszban, azonban a szaporítóanyag előállítás ettől a megközelítéstől igencsak távol helyezkedik el. A tároló helyiségben pusztán beérett, feldarabolt vesszők vannak, melyekben nem zajlanak olyan mértékű élettani folyamatok, amik megóvhatnák őket a saját védekező rendszerükön keresztül. Ezért a szőlő beérett vesszőinek felépítését elemezzük kísérletük megérteni, és összefüggést találni a gombafertőzés és a szövettani jellemzők között.

2.2 Célkitűzések

1. Célul tűztük ki a vizsgált szőlőfajták vesszőinek összehasonlító vizsgálatát a szöveti különbözőségek szempontjából, ami lehetővé teszi a fajtajellegek, azonosító bélyegek leírását. Összefüggést keresünk a *Botrytis cinerea* által okozott fertőzés és a szőlővessző szöveti szerkezete között.
2. Vizsgálatainkban a szőlővessző felépítését tanulmányozzuk. Az eredményeknek megfelelően gyakorlati szempontból egyszerűbb elnevezéseket szándékozunk bevezetni az oltás szempontjából kulcsfontosságú vesszőoldalak nevezéknevébe.
3. Begyűjtött *Botrytis cinerea* izolátumok morfológiai vizsgálata alapján összefüggést keresünk a szaporítóanyag előállítás időszakára jellemző környezeti tényezők és a kórokozó fejlődési folyamatai között.
4. A *Botrytis cinerea* izolátumok mikroszatellit vizsgálata alapján kapcsolatot keresünk a növényanyag előhajtatóban történő fertőződése, valamint a területi adaptálódás között.
5. Célunk volt olyan alternatív *Botrytis cinerea* elleni védekezési eljárások keresése, melyek sem humán-egészségügyi, sem környezet-terhelési kockázattal nem járnak, mégis képesek kiváltani a szaporítóanyag-előállítás során alkalmazott fungicideket.

3 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1 A szőlő szaporítóanyag előállítás jellemzői

A világ szőlőtermesztése mintegy 7,5 millió hektáron folyik (OIV, 2018). Ha feltételezzük, hogy az ültetvények 5-10 %-a megújul évente, akkor 2500 – 5000 hektáronkénti tőkeszám mellett ez 187 500 000 - 375 000 000 db ültetési alapanyag előállítását jelenti, melyhez kb. 30%-kal több vesszőt kell átmenetileg tárolni. A szabályozás előírásainak [Magyarországon „A szőlő szaporítóanyagok előállításáról, minősítéséről és forgalomba hozataláról szóló 87/2006. (XII. 28.) FVM rendelet”] betartása mellett a szőlő szaporítóanyag növényegészségügyi állapota a telepítés miatt is kiemelkedően fontos. Sérült, fertőzött vesszők illetve oltványok felhasználásával nem tudunk több évtizeden át, megbízhatóan termő, életképes ültetvényt létesíteni.

A szaporításra szánt alapanyag begyűjtését lombhullástól kezdhetjük. Ennek munkafolyamatait a feldolgozással összhangban szükséges megszervezni, mellyel elkerülhető a kórokozók általi fertőződés és a vesszők vízvesztése. Alapvető elvárás, hogy a fertőzött, sérült vagy nem kellően beérett vesszőket nem szabad felhasználni. A minőségi ellenőrzést a teljes folyamat során rendszeresen végre kell hajtani.

A feldolgozásnak a vesszőszedés után 24-48 órán belül meg kell történnie. Ez a folyamat az alapanyag minőségi válogatásából, a vesszők méretre vágásából, oltványkészítés esetén az alanyvesszők vakításából és talpalásából, az oltócsap előkészítéséből, végül pedig a kötegelésből, valamint az oltócsapok bezsákolásából áll. Ezek részleteire jelen munkában nem térünk ki, az alapanyag egészségi állapotának szempontjából mindössze azt hangsúlyozzuk, hogy törekedni kell a minél tisztább vágási felületekre, és a sérült vagy fertőzött vesszők eltávolítására a munkafolyamatból.

A szőlővesszővel kapcsolatban részarányatosan (aszimmetrikus) felépítésről beszélhetünk, ahol levél-, kacs-, hónaljajtás- valamint téli rügy-oldalt különböztetünk meg (Kocsis, szóbeli közlés). A téli rügy- és kacs-oldalak elhelyezkedése ízközönként váltakozik. A hajtás megnyúlását követően elkezdődik annak másodlagos vastagodása. A kambium megalakulása után a faszikuláris kambium másodlagos xilémet hoz létre a belső oldal felé, míg másodlagos floémet kifelé. A bélsugársejtek az interfaszikuláris kambiumból fűződnek le (Bényei *et al.*, 1999). Haraszty (1978) leírása alapján a primer szállítószövetek nyalábosan jelennek meg, elsődleges merisztémaértékű kambiumok működnek a fa- és háncsrész között. A nyalábokat

parenchimatikus elsődleges bélsugarak választják el. A másodlagos vastagodás megindulásakor az elsődleges bélsugaraknak a nyalábkambiumok vonalába eső parenchimasejtjei osztódni kezdenek, azaz másodlagos merisztéma-jellegű interfaszczikuláris kambiumokká válnak. A nyaláb- és a nyalábközi kambiumok egységes kambiumhengerré záródnak. A szőlő növény a szárvastagodás szempontjából az aristolochia- vagy lián-típushoz tartozik, felépítése lehetővé teszi az egyébként fásodó szár csavarodó kapaszkodását. Ennél a típusnál az interfaszczikuláris kambiumok továbbra is bélsugár-parenchimat termelnek, csupán a nyalábkambiumok hoznak létre másodlagos szállítóelemeket. Tehát a nyalábos szerkezet megmarad, de a nyalábok között bélsugárpászták maradnak.

A vastagodás következtében az epidermiszréteg elszakadozik, az alatta elhelyezkedő sejtek merisztematikus jellegű öltének. Kialakul a parakambium, melynek működése néhány sejtréteg létrehozása után, a kambium osztódásával együtt leáll. A parakambium működése során leválasztja a fölötte elhelyezkedő epidermiszt, kérget, hánckoronát, metafloémet és a másodlagos floém egy részét, mely szövetekből együttesen alakul ki a holt kéreg. Ez alatt helyezkedik el az élő kéreg, ami a kambiumig terjed (Bényei *et al.*, 1999). A phellom, a phellogen és a phelloderma együttesen alkotják a külső kérget vagy peridermát, ami a holt, mégis rugalmas és erősen parásodott sejtek és viasz többrétegű kombinációja, mely megvédi a hajtást (később a vesszőt, kordonkart és töketörzset) a sérülésektől éppúgy, mint a víz- vagy tápanyagvesztéstől, és nem csak átveszi az epidermisz/kutikula funkcióját, hanem szigetelést ad a hőmérsékleti ingadozások ellen (Lendzian, 2006). Feltételezések szerint a pararéteg lenticellái kiegészítő védelmet nyújthatnak, különösen a gombás fertőzések ellen, mely a fenolos vegyületek, mint a rezveratrol és ϵ -viniferin jelenlétéből adódhat. Ez lehet egyik oka a fás szövetek lassú pusztulásának (Keller, 2010). A *B. cinerea* szőlővesszőn történő fertőzése szempontjából a holt kéreg, valamint az alatta elhelyezkedő élő kéreg tanulmányozása fontos.

A szőlő szaporítóanyag előállítás számos pontján károsodhat a növényi anyag. Amikor az anyatókékról levágjuk a szaporításra szánt vesszőket, a földön húzva gyűjtjük össze őket. Így egyrészt mechanikai sérülésnek is kitésszük az alapanyagot, másrészt a talajban élő mikroszkópikus organizmusok, nekrotróf, illetve szaprotróf gombák megtelepedése is kárt okozhat. Mindkettő csoportba sorolt kórokozók, a nekrotróf és a szaprotróf gombák is károsítanak. A biotróf patogének nem játszanak szerepet ebben a folyamatban, mert a szőlő csak a vegetációs időben végez aktív asszimilációt, ezért elsősorban a fakultatív gombák fertőzésével számolhatunk. Ezek közül elsősorban a *Botrytis cinerea* kórokozót tartják felelősnek a szaporítóanyag károsodásáért. Emellett Eifert *et al.* (1981) említik az *Alternaria*

fajokat is. Ez utóbbi gomba a kertészeti kultúrák közül elsősorban a burgonyafélék kórokozójaként ismert, de a szőlővesszőt is károsíthatja.

A szaporítóanyag begyűjtése után a vesszők méretre vágása következik, majd a kötegelés és a további feldolgozásig történő hűtőtárolás. A vessző kiszáradását meg lehet előzni műanyag zsákokban történő tárolással, vagy fólia takarással. Ezután az alany esetében a rügyek kivakítását és a talpalást végezzük, a nemes fajták feldarabolása pedig egy-egy rüggyel rendelkező vessző darabokra történik úgy, hogy a rügy fölött 1-2 cm-t, alatta a gépi oltáshoz elegendő hosszúságú, általában 5-7 cm méretű részt hagyunk.

Az oltást napjainkban többnyire nagyüzemi méretek között, kézben oltással, oltógép használatával végezzük. A termelők általában omega-oltást alkalmaznak, ennek van a legjobb, a szaporítási folyamat egészét tekintve, szinte a kézi oltással azonos minőségű eredménye. A kész oltványokat ezután hajtató ládába helyezük, itt együtt rétegezzük a hajtató közeggel, ami elsősorban benedvesített fűrészpor vagy kertészeti perlit, mellyel a teljes oltványt befedjük. A hajtató ládát ezután letakarjuk, hogy megóvjuk a növényi anyagot a kiszáradástól. A ládában egységnyi területen nagy a növényi egyedszám. A tároló helyiségben a kalluszosodás időszakában, a megfelelő minőségű kallusz-szövet kialakulásához 22-26°C hőmérsékletre és 92-95% páratartalomra van szükség, ez a mikroklíma a kórokozók számára azonban ideális körülményeket teremt. Egy-egy gombatelep megjelenése a hajtató ládában szorosan egymáshoz érő vesszők között fertőzési góc kialakulásához vezethet, ennek megelőzésére betárolás előtt az oltványokat fungicides vízben áztatjuk.

Eifert *et al.* (1981) összefoglalása alapján ahhoz, hogy az oltványkészítés során új növényegyedeket kaphassunk, szükségünk van kalluszra, tehát arra a sebszövetre, ami az alanyvessző csúcsi részén, illetve a nemes csap alapi részén fejlődik. A kallusz differenciálódik, ezáltal olyan szöveti összeköttetés alakul ki, amivel az új növényegyed el tudja látni minden életfunkcióját. Ezt kezdetben a vesszőkben eltárolt tápanyag-tartalékok teszik lehetővé, azonban miután felhasználódott a teljes mennyiség, az oltvány csupán a megfelelő szöveti egyesülés és differenciálódás révén tud életben maradni és tovább fejlődni. A folyamatok lezajlásához arra van szükség, hogy a felhasznált növényi anyag elegendő biológiai energiával rendelkezzen, illetve olyan fiziológiai állapotban legyen, hogy ezt az elraktározott energiát tudja is mozgósítani. A szőlő esetében ehhez tartalék tápanyagokra van szükség, ami főként a szénhidrátot jelenti (Kocsis, 2010). Ebből az energia a sejtlégzéssel szabadul fel, aminek egy része az új sejtek, szövetek és szervek képzéséhez használódik fel. Az előhajtás időszakában már a fényenergiának is fontos szerep jut, illetve a növekedési hormonrendszereknek is, hiszen

ez utóbbiak szabályozzák a sejtek osztódását és a szövetek szerveződését. Ezek a folyamatok kizárólag megfelelő vízállapotú vesszőkben képesek lejátszódni, így a tárolóban elhelyezett alapanyag nedvességjellemzője meghatározó. A vesszők téli nyugalma alatt a fiziológiai állapot több eltérő szakaszból áll, melyeket belső folyamatok szabályoznak. Változik a légzés aktivitása, a szénhidrátok formái, a hormontartalom, valamint a sejtosztódási képesség, illetve a rügyfakadás. Miután a téli nyugalom időszakában a könnyen mobilizálható szénhidrátformák lényegesek, így elsősorban a cukrokat és keményítőket szükséges tárgyalnunk. Ezeknek a mennyisége nagymértékben függ a vegetációs időszak időjárásától, illetve az ültetvényápolási munkák végrehajtásától. A vessző beérésének egyik fő jellemzője a szénhidráttartalom. Szaporítóanyag előállítás szempontjából ez a tényező rendkívüli jelentőséggel bír, hiszen a vesszőnek ebből az energiabázisból kell gazdálkodnia addig, amíg az új növényegyed gyökerek révén a gyökértevékenysége, illetve az újonnan kialakult hajtás, rajta a levelek révén a kielégítő mértékű asszimilációja el nem indul. A vegetáció végéig a fatestben és a háncsban egyre nagyobb mennyiségben jelenik meg a keményítő és alacsony a cukortartalom. Ősszel, a lombszíneződés kezdetekor az uralkodó szénhidrátforma a keményítő, ami ettől kezdődően fokozatosan elkezd átalakulni cukrokká (Hellman, 2003). A folyamat szabályozását a β -amiláz enzim végzi, ami gátolja az amilo-foszforiláz enzimrendszer működését. Ennek jelen esetben keményítő szintetizáló szerepe lenne. Ez a gátlás december közepétől kezdve megszűnik, és ezzel fejeződik be a szőlővesszők mélynyugalmi állapota. Ezt számos anyagcsere-folyamat jelzi, és inentől kezdve a hőmérséklet játssza a fő szerepet a vesszőben lezajló folyamatok szempontjából.

Az amilo-foszforiláz enzim működésének hatására a keményítő szintézis már 8-10°C-on elkezdődik. A sejtosztódási és -szerveződési folyamatok lezajlásához magasabb hőmérsékletre van szükség. Ezért a vesszőkben a rügyfakadást megelőző időszakban kialakul egy keményítő kismaximum. Ha a magasabb hőmérsékleti körülmények mellett jellemző szintetizáló folyamatok nem tudnak végbemenni, akkor nem történik energia felhasználás, és szinte leáll a tartalék tápanyagok felhasználása. A rügyfakadás előtti állapotban a vesszők eredeti szénhidrát-készletének 20%-a felhasználódik, és az ekkor jellemző keményítő-kismaximum tulajdonképpen olyan kiindulási pont, melynek hatására a vegetációs időszak elindul. Hogyha a körülmények még nem ideálisak a sejtosztódási és sejtszerveződési folyamatok elindulásához, a növény ebben az időszakban már bármikor készen áll egy robbanásszerű rügyfakadásra. A hőmérséklet emelkedésével megszűnik a légzés spontán akadályozása.

Eifert *et al.* (1981) eltérő körülmények között vizsgálták a szőlővesszők szénhidrát-anyagcseréjét, így a szabadban, a tőkén teletelve, valamint a feldolgozás, a tárolás, az előhajtás és az edzés időszakában. Azt tapasztalták, hogy a levágott és elvermelt vesszők anyagcseréjére jellemző tulajdonságok nem változnak. A természetes körülményektől jelentősen eltérő hőmérséklet esetén azonban az anyagcsere folyamatok is módosulnak. Igazolták, hogy 0-4 °C között eltárolt és a szabadföldi vesszők szénhidrát-anyagcseréje hasonló értékeket mutat. A tavaszi keményítő-kismaximum is ki tud alakulni, de miután alacsonyabb a hőmérséklet, mint természetes körülmények között, ahol ebben az időszakban 10 °C körüli érték jellemző, a természeteshez képest később történik. Megfigyelték, hogy 24 °C-on ez a folyamat még gyorsabban megy végbe. Kimutatták, hogy ha már tél elejétől magasabb hőmérsékleten tárolják a vesszőket, légzésük felgyorsul, ennek következtében a szénhidrátok mennyisége hirtelen csökken, de a termelődő energia nem tud megfelelően hasznosulni, így a keményítő-kismaximumot december közepéig nem tudták kiváltani. Megfigyelték, hogy 10°C alatti tárolás esetén a mobilizálható összes szénhidrát mennyisége hirtelen megemelkedik, és az ideális hőmérséklet beállításával a megfelelő időpontban kiváltható a keményítő-kismaximum. Azt is bizonyították, hogy a szokásos vessző-feldolgozási és tárolási körülmények között, ahol 10-12°C jellemző, a vesszők már elveszítik tartalék szénhidrát tartalmuk 20-25%-át még az oltás előtt. Igazolták, hogy a különböző hőmérsékleti körülmények között tárolt alanyvesszők a szénhidrát-tartalomtól függően eltérő eredést adnak, tehát a nagyobb szénhidrát-készlettel jobb arányt lehet elérni azonos kalluszosodási fázisban. Azonos tartalék tápanyag mennyisége esetén viszont már a kallusz-periodicitás a meghatározó.

Az előhajtási fázis az oltványkészítés leginkább energiaigényes szakasza. Ez akkor zajlik természetesen, mikor a növény már elkezd felhasználni a tartalékokat, és ennek a folyamatnak minden lépése rendkívül gyorsan, hőmérsékletre érzékenyen történik. A szokásos technológiák szerint az oltványok előhajtása 2-3 héten át zajlik 23-30°C-on, ezalatt kialakul a hegszövet, a nemesből kihajtanak a rügyek, az alanyon pedig gyökerek, illetve a talpi részen több-kevesebb kallusz képződik. A folyamatban rendkívül gyors a tartalék szénhidrát felhasználása, ezzel az energiaszolgáltatás is, hiszen párhuzamosan rendkívül energiaigényes folyamatok zajlanak. A hőmérséklettel összefüggésben a légzés intenzitás is változik, azonban a folyamat felgyorsulását a szintetizáló folyamatok nem tudják arányosan követni, így túlságosan magas hőmérséklet esetén nagy energiaveszteség lép fel. Miután a légzés fokozódása gyors, minden egyes °C-nak nagy jelentősége van. Kísérleteikkel igazolták (Eifert *et al.*, 1981), hogy +23°C-on előhajtott oltványok a hajtási időszak végére elveszítették a tartalék szénhidrát 40%-át.

Az előhajtás gyengén megvilágított helyiségben történik. A kiszáradást megelőzendő a hajtató ládákat lefedik textillel, vagy olyan takaróanyaggal, ami meggátolja a párolgást a ládából. Ennek következtében az oltványokból már eleve etiolált hajtások bújnak elő.

A következő technológiai lépés az edzés, aminek két feladata van. Az egyik, hogy szabadföldi körülményekhez szoktassuk a növényeket. A másik funkció, hogy a hajtások ilyenkor tudnak zöldülni, tehát a fényenergia hasznosítását csak ekkor tudják megkezdeni. A hőmérséklet csökkenésével a légzés intenzitása alacsonyabb, mert amíg aprók a levelek, addig nem termelődik annyi asszimiláta, amennyi a hajtás és a levelek növekedéséhez szükséges. Tehát a vesszők ebben a helyzetben is az elraktározott tápanyagkészletre tudnak hagyatkozni.

A kutatók (Eifert *et al.* 1981) azt tapasztalták, hogy a +20°C-on edzett növények tartaléktápanyagai nagyon gyors csökkenést mutattak, míg a 10 °C-on edzett növények esetében lassú emelkedést figyeltek meg. Ez az eredmény is alátámasztja, hogy az előhajtásban is nagy szerepe van a fénynek. Ha az előhajtás kezdetétől fény éri a kalluszt, illetve a rügyeket, a hajtás zölden tud fejlődni, és a kallusz is bezöldül, így lehetőség van a fényenergia azonnali hasznosítására, ami a tartaléktápanyagok takarékos felhasználását eredményezi. Az úgymond szabad fejjel hajtott oltványok mindig kimagasló eredményt hoztak. Ebben az esetben a láda csak az oltáshelyig van feltöltve a hajtató közeggel. Az oltvány felső részét paraffin védi a kiszáradástól. A tartaléktápanyagok szempontjából meg kell említeni, hogy egy új növény kialakulásához végső soron egy adott szaporításra szánt vessző teljes szénhidrát tartalma rendelkezésre áll, tehát ebből a szempontból egy vastagabb vessző több tartalékot jelent. Egy másik tény, amit szükséges figyelembe venni, hogy a vesszőben lokális szénhidrát hiány is felléphet. Tehát a kalluszhoz közelebbi vesszőszakaszokon egy rövid időre lényegesen kevesebb cukor és keményítő áll rendelkezésre, mint a távolabbi részein, és ennek a kiegyenlítődésére időre van szükség. Ezekből kiindulva Eifert *et al.* (1981) javaslatokat fogalmaztak meg a szaporító üzemek számára.

Az első, hogy a szaporításra begyűjtött alapanyagot a nyugalom beállta után mielőbb meg kell szedni, és minél előbb tárolóba kell helyezni, ahol a hőmérséklet 0-2 °C között van. Ennek oka, hogy egyrészt a fagy is hatással lehet a növényanyagra, másrészt az enyhe tél is okozhat szénhidrát veszteséget. Emellett a meleg tárolás szintén szénhidrát csökkenést eredményez.

A következő javaslat, hogy a keményítő kismaximum előtt szükséges az alapanyagot begyűjteni, ugyanis ezután mindenképpen tartalék szénhidrátban szegény a vessző.

A rétegezett oltványokat az előhajtás előtt különösen fontos 0-4 °C között tárolni, főként a nagyüzemekben, ahol a nagy mennyiség miatt elhúzódik az oltás. Arra is felhívják a figyelmet, hogy minél rövidebb ideig legyen a növényi anyag meleg helyiségben a feldolgozás, áztatás és oltás során. Ekkor csak a munkavégzéshez szükséges minimális fűtést szabad biztosítani. Az előhajtáskor a hőmérsékletet úgy kell beállítani, hogy az elég magas legyen a gyors kalluszosodás érdekében, viszont a szénhidrátok megóvása miatt ez a lehető legalacsonyabb legyen. A vizsgálatok tapasztalatai szerint az oltáshelynél mért 23-25°C hőmérséklet volt legkedvezőbb az oltványok számára, és ezt a hőfokot minél előbb el kell érni (Eifert *et al.*, 1981).

Az előhajtás idején szükséges környezeti feltételekről Eifert *et al.* (1981) az alábbiakat írja. Az előhajtást fényben kell végezni, ekképpen a növény a fényenergiát a saját energiagazdálkodására tudja fordítani, így a kallusz differenciálódásra és a hajtások és levelek növekedésére. A nem kielégítő megvilágítási körülmények a sejtek, hajtások megnyúlását, etiolálódását eredményezik, ami szintén energiát fogyaszt. A nyurgult hajtás többet felemészt, mint a zömök. Az iskolázás előtt az oltványokat edzeni szükséges, amihez 8-10 °C az ideális hőmérséklet. A gyors gyökeresedés feltételeinek biztosításához a közeg legyen gyorsan melegedő, 10-12°C-os, jó szerkezetű. Konténeres gyökereztetés esetén a melegtalp hőmérséklete 20-25 °C-on ideális, viszont a felső zöld részeket hűteni szükséges 15-20°C-ra.

A kielégítő kalluszosodás előfeltétele az oltási elemek összeforradásának. A folyamat rendkívül sokrétű jellemzői közül csupán néhányat szeretnénk kiemelni. Előzőekben megemlítettük a kalluszperiodicitás jelenségét, ami a hegszövet-képzés időszakos eltéréseit mutatja. Eszerint lombhullás és december eleje között, valamint május és június hónapokban a kalluszképzés jellemzően csekély mértékű, míg maximuma március és április dereka között figyelhető meg. Az oltás műveletének szokásos ideje is erre a jelenségre vezethető vissza. A hegszövet-képződés időtartamának hosszát azonban a megszedés után 0-4°C-on tárolt vesszők esetében meg tudták változtatni, és a szabadban tárolt vesszőkkel ellentétben még május-június hónapokban sem tapasztaltak csökkenést a kalluszosodás mértékében (Eifert *et al.*, 1981).

A hegszövet kialakulásának mértékét az év különböző időszakain kívül egyéb tényezők is befolyásolják. A vessző pólusai szerint is eltérően zajlik le a folyamat. Eifert *et al.* (1981) észrevételei alapján a szőlővessző bazális végén a kallusz képződése minden esetben intenzívebb, mint az apikális pólusán. Ez a polaritás rendkívül kifejezett, az oltáskor készített metszési felületen is érvényesül.

Ami szintén nagyon lényeges az oltás szempontjából, hogy a kalluszosodás mértéke a metszlap kerülete mentén is eltér, mert a forradásnak körkörösen kell létrejönnie (Hengl, 1955). A vessző keresztmetszete nem kör alakú. Ez az egyenlőtlenség abból következik, hogy a kambium tevékenysége nem azonos az egyes oldalakon. Ez az oka annak is, hogy többségében a hasi és háti oldalon erőteljesebb, míg a lapos és barázdás oldalon gyengébb a kalluszosodás (Schenk, 1955).

Az előzőekben már említettük a vessző fajtatulajdonságának köszönhető vastagságbeli különbséget. Ez egyéb okokra is visszavezethető, illetve a farész vastagsága nem csak a vessző keresztmetszetének méretével függ össze, hanem a vegetációs időszak környezeti hatásaival is. A fa-bél arány is változhat a különböző évjáratokban, ami viszont hozzátartozik a szőlő szaporítóanyag minőségi paramétereikhez, amire a művelésmód is hatással lehet, azonban jelen dolgozatban erre nem térünk ki. Ki kell emelnünk azonban, hogy azoknak a fiziológiailag és szövettanilag beérett vesszőknek, amik alkalmasak a szaporítóanyag előállítására, szöveti felépítésük ismerete kiemelkedően fontos

3.1.1 A szőlő szövettani jellemzői

A fa-bél arány szempontjából azt a vesszőt tartjuk szaporításra alkalmasnak, ahol a farész két oldalon mért vastagsága együtt eléri, vagy meghaladja a bél átmérőjét. A bélszövet terjedelme már a szövetek állandósulásakor meghatározott, a farész viszont a másodlagos vastagodás idején növekszik a kambium működése révén. Végleges mérete tehát attól függ, hogy a kambium milyen intenzitással gyarapítja, illetve a parásodás mikor kezdődik. Intenzív hajtásnövekedés idején a parásodás gátolt, így ha a csonkázást elvégezzük, ezzel megállítjuk a növekedést, és a folyamat korábban elkezdődik. Eifert *et al.* (1981) igazolták, hogy minél magasabb a meghagyott hajtások száma és a csonkázás időpontja minél előbb van, annál kevésbé megfelelő a fa-bél arány a vesszőkben. A későbbi időpontban elvégzett csonkázás azonban előnyös lehet a kambium működésének fagyok előtti leállításának elősegítése céljából.

Hegedűs (1966) szerint a vessző érettségét több tényező figyelembevételével lehet megállapítani, melyek mindegyike hatással van a vessző szaporítási céllal történő felhasználhatóságára. Egy ilyen vizsgálat alkalmával szükséges értékelni a vesszők szilárdságát, a fa-bél arányt, a hánccs egyenes vastagságát, és a bélrekesz minőségét. A leírás megemlíti még az azévi hajtások optimális időpontban történő visszavágását a vessző beérésével kapcsolatban, miután a késői csonkázás segíti a vessző másodlagos vastagodását, így a kedvező fa-bél arány kialakulását.

A szár másodlagos vastagodása szövettani változásokat jelent, amik a kambium kialakulásával kezdődnek. Az elsődleges szövetek állandósulnak, melyek megadják a bél végleges méreteit is. Ezután a nyaláb-kambium tevékenysége másodlagos xilémet és floémet hoz létre, valamint létrejön az interfascikuláris kambium is. Ezzel egy időben az elfásodott hánccskoronák erőteljes rostnyalábokat alkotnak. Helyenként kialakulnak a másodlagos bélsugarak és nyalábok. A fásodás végbemegy a xilémbe, illetve az azzal szomszédos sejtek xilém felőli oldalán, így a bélsugaraknál és a bélnél is. Az elfásodás folyamatában észrevehető egyfajta periodicitás, mert a xilém-elemek egyidőben fásodnak el azután, hogy egy bizonyos mennyiségű faelem már kialakult. A folyamat következő szakaszában megindul a bélszövet elhalása, mikor a sejtek levegővel telnek meg, és a bélszövet elfehéredik. A keményhánccs-rétegek megjelenése után kezdődik a keményítő felhalmazódás, ezt követően a parásodás, majd a kambium befejezi működését. Közvetlenül ezután indul az utolsó fázis, a bélszövet barnulása.

A dorziventrális szárfelépítés Hegedűs (1966) leírása alapján azt jelenti, hogy a levélállások síkjában kettévágva a hajtást két morfológiailag eltérő, háti és hasi részt találunk. Emellett a hónalj-rügyek rügypikkelye a hasi oldal irányába néz, ennek megfelelően a rügypikkely hónaljában kifejlődő áttelelő rügyeket is a hasi oldal felől találjuk, a hónalj-hajtásokat pedig a háti oldal felől. A hasi oldal minden esetben erősebben fejlett, mint a háti, ami viszont a megnyúlás kezdeti szakaszában gyorsabb növekedésű és mindig színesebb, mint a hasi oldal.

3.2 A *Botrytis cinerea* jelentősége

A gombakórokozók fertőzésének elkerülése érdekében hosszú idő óta bevett gyakorlat volt a vesszők beáztatása, amihez 8-hidroxikinolin-szulfát-káliumszulfát hatóanyag-tartalmú szereket alkalmaztak (Becker, 1965; Eifert *et al.*, 1981). Eifert *et al.* (1981) leírása alapján a szer előírás szerinti keverésével 1 m³ áztató-oldat 57 ezer vessző kezeléséhez volt elegendő. Magyarországon utoljára 1998-ban volt forgalomban a Solvochin Extra nevű, az említett hatóanyagot tartalmazó szer (Növényvédő szerek, termésknövelő anyagok, 1998), melynek engedélye az akkori jogszabályok szerint (A növényvédelemről szóló 1988. évi 2. törvényerejű rendelet végrehajtásáról szóló 5/1988. (IV. 26.) MÉM rendelet) 10 év után járt le, ami nem került meghosszabbításra. Ennek következtében jelenleg nem áll a rendelkezésre olyan készítmény, mellyel hatékonyan megóvható a növényi anyag, így egy esetleges fertőzés jelentős anyagi veszteséget okoz.

Bár egyes munkák (Eifert *et al.*, 1981) több gombakórokozót is megemlítenek, melyek a szaporítóanyag károsodását idézhetik elő, a védekezés hangsúlyosan a *B. cinerea* ellen irányul.

A szürkepenészes rothadásnak a *Botrytis cinerea* Pers. konídiumtartós gomba a kórokozója. Ivaros alakja a *Botryotinia fuckeliana* (De Bary) Whetzel, Váczy (2009) leírása szerint ez a forma is fontos szerepet játszhat a populációk variabilitásában, mely hozzájárulhat a nagyfokú fungicid-rezisztenciához. A *B. cinerea* kórokozó szaprotróf, nekrotróf életmódot folytató, és emiatt nagyon sok gazdanövénnyel rendelkező polifág gomba. Élő növényeken és élettelen növényi maradványokon, valamint a fertőzött szőlővesszőkben is áttelel, ezért a fertőzési források száma rendkívül nagy (Glits és Folk, 2000). Az is bizonyított tény, hogy a tarka szőlőmoly (*Lobesia botrana*) és a *B. cinerea* között megfigyelhető a mutualizmus jelensége (Mondy *et al.*, 1998).

A kórokozó a szőlőültetvényekben rendszeresen jelentkezik, de kártétele az évjáráthatástól függ, súlyos járványokat csapadékos, meleg időben figyelhetünk meg (Glits és Folk, 2000). Holz *et al.*. (2007) megállapításai alapján az inokulum lehet makro- és mikrokonídium, aszkospóra, makro- és mikroszklerócium, klamidospóra és micélium. A konídiumok kifejlődéséhez 20-25 °C-os hőmérséklet, 92-97%-os relatív páratartalom szükséges, melyek 6-8 óra alatt fertőzőképesek. 18-20 °C-on és 20 órán át tartó felületi nedvesség esetén a konídiumok csírázni kezdenek. Az ivartalan spórák száma augusztusban és szeptemberben a legmagasabb, ezek leginkább légmozgással terjednek.

A szőlő esetében a fertőzés kialakulásához legalább 15 óra 18-21 °C-os hőmérséklet, magas relatív páratartalom és csapadékos időjárás teremt kedvező feltételeket (Lázár *et al.*, 2004). Eifert *et al.* (1981) szerint a tartósan átnedvesedő holt kéregszöveten a kórokozó kicsírázik és a konídiumokból fejlődő hifák kolonizálják azt. Miután a gomba átjutott a bőrszöveten, a micélium intercellulárisan növekedésnek indul. Pektinbontó enzimet termel, ezzel felbontja a sejtfal pektin anyagát, a szövet felpuhulását okozva. Nagyfokú hidegtűrése miatt jelentős patogén hatást tulajdonítunk neki tároló helyiségekben, illetve szállítás alatt is (Váczy, 2009). A *Botrytis* spp.-t eleinte mérsékelt övi kórokozóként írták le (Coley-Smith, 1980), melynek valószínűleg az lehetett az oka, hogy főként szőlőültetvényekben vizsgálták a gombát. Időközben bebizonyosodott, hogy a *Botrytis* nemzetség tagjai megtalálhatók trópusi területektől egészen a hideg égőig. Alaszkában is, de meleg és száraz területeken is felvételeztek *B. cinerea*-t (Anderson, 1924; Yunis and Elad, 1989). A konídium gyors csírázása, fertőzőképessége, micélium növekedése és spóráképzése miatt a patogén elleni védekezés az egész világon nagy gondot okoz.

Miután a gombák heterotróf szervezetekként nem képesek önálló szervesanyag-előállításra, rá vannak utalva gazdanövényükre. Alkalmazkodniuk kell annak változásaihoz, hiszen ha egy

megváltozott helyzetben nem tudják megtalálni a túléléshez szükséges stratégiát, elpusztulnak. Ennek következtében a patogén gomba kénytelen követni gazdanövénye földrajzi, evolúciós változásait. Ez a koevolúciós folyamat a *Botrytis* nemzetség esetében (anamorf és teleomorf alak együttesen) 22 fajt és egy hibridet eredményezett. Ezek közül a *B. cinerea*-t polifág patogénként tartjuk számon, hiszen gazdanövényköre igen tág, 200 fölött van a növényfajok száma. Különösen öregedő vagy legyengült, sérült növényeket betegít meg (Staats *et al.*, 2005). A légtérben a kórokozó konídiumai folyamatosan jelen vannak. Stellwaag-Kittler 1969-es vizsgálatának eredményei azt mutatják, hogy olyan szüreti időszakban, mikor az időjárás tartósan száraz, így rothadó fürtök még nem találhatóak a szőlőültetvényben, a bogyók felületén már ekkor is egyenként mintegy 1000 db konídium mutatható ki, ami 2 db/mm² konídium-sűrűséget jelent egy 12 mm átmérőjű bogyó esetében. Súlyos mértékű fertőzés esetén ez az érték 8000-szeresére növekszik. Az említett értékek természetesen a szőlővesszők felületére is érvényesek. Roussel és Bouard 1970-ben megállapították, hogy a vessző felületére került konídiumok már relatív alacsony hőmérsékleten, 0-10 °C-on is képesek csírázni.

A *B. cinerea* fertőzési folyamatának háttere széles körben tanulmányozott terület. A kórokozó különböző stratégiákkal alkalmazkodik az eltérő körülményekhez. Túlélésének biztosítására fejleszti a szkleróciumot, ami az ellenálló réteggel körbezárt micéliumot hosszú időn át megvédi a kiszáradástól, UV sugárzástól és mikrobiális támadásoktól (Backhouse and Willets, 1984). Cole (1996) vizsgálatának eredményéből tudjuk, hogy szárazon végzett provokációs kísérletben a konídium rövid idő alatt csírázott, de csak rövid csíratömlőt képzett. Ezzel szemben vizes glükóz jelenlétében a konídium hosszú csíratömlőt hozott létre, mely átszötte a teljes szubsztrátumot. Más gombakórokozók (pl. *Magnaporthe grisea*) fizikai nyomást létrehozva jutnak át az epidermiszen, erre azonban a *B. cinerea* nem képes, mert sejtjei között nem található harántfal, mely elválasztja az apresszóriumot a csíratömlőtől. Van Kan (2006) áttekintő cikkében ír a kórokozó növény felszínén keresztül történő behatolásáról. Eszerint a felületre kerülve a *B. cinerea* apresszóriumot képez, ami egy pecekkel felsérti a kutikulát. Paradicsom levelén tanulmányozták ennek folyamatát. Észrevették, hogy a levél felületén az apresszóriummal történő érintkezés helyén, feltehetően a poliszacharidokban változások indultak el. A BcPLS1 gén eltávolítását követően a kórokozó képzett apresszóriumot, azonban nem volt képes behatolni az ép bőrszövetbe. A kórokozó apresszóriuma enzimeket választ ki, hogy képes legyen megsérteni a növényi felszínt. Ezzel összefüggésben vizsgálták a kutináz és lipáz enzimeket. Az ezeket aktiváló gének törlése nem változtatott észrevehetően a kórokozó fertőzőképességén, azonban még további kutináz és lipáz gének is szerepet játszhatnak a

fertőzésben. A penetráló pecek (a csíratömlő végén megjelenő, tapadókorong szerű hifamódosulat) csúcsa a kutikula felsértésekor hidrogén-peroxid (H₂O₂) képződését generálja, aminek köze lehet a behatolás sikeréhez oly módon, hogy módosítja a kutikula szerkezetét, így annak bontása könnyebbé válik. Ezt követően a pecek az epidermisz alsóbb rétegének antiklinális sejtjei közé hatol. Az antiklinális sejtfal pektinben gazdag, és a fertőzés a korai szakaszban pektináz aktivitást eredményez, különösen az BcPG2 esetében.

Meg kell jegyeznünk azonban, hogy jelentős különbség van a levéllemez és a vessző felépítésében. Míg a szőlőlevél esetében kutikula, felső epidermisz, oszlopos parenchima, szivacsos parenchima, alsó epidermisz, végül újabb kutikula réteg adja a lemez szerkezetét (Ribereau-Gayon-Peynaud, 1971), addig a vessző felépítése összetettebb. Az érett vesszőt holt kéreg borítja, ez alatt helyezkedik el az élő kéreg, ami a kambiumig terjed, ezen belül pedig a fatest található. Itt szállítónyalábok, és közöttük az elsődleges bélsugarak helyezkednek el. A fatesten belül az elhalt sejteket tartalmazó bélszövetet találjuk (Hegedüs, 1966).

A botritiszes szürke rothadás mellett, hogy termés kiesést, illetve tárolási veszteséget okoz, az ellene végzett fungicides kezelések kapcsán is magas védekezési költségeket indukál szerte a világon. Ennek megfelelően világszerte, számos kutatóintézetben alakultak csoportok, melyek kifejezetten a *Botrytis*-sel kapcsolatban végeznek vizsgálatokat a kórokozó biológiájának, járványtanának, komplex működésének jobb megértése céljából.

Jelen fejezetben a *B. cinerea* fertőzési folyamatát, valamint a kórokozó és a növény közötti interakciót tárgyaljuk.

Fertőzés és terjedés. Az inokulum lehet makro- és mikrokonídium, szklerócium, apotécium, klamidospóra, aszkospóra és micélium (Holz *et al.*, 2007; Jarvis, 1980). Látens fertőzés is létrejöhet számos gazdanövény esetében, ahol fertőzés után a kórokozó nyugalmi állapotban marad, amiről több kutatás is beszámolt (Jarvis, 1962, Verhoeff, 1970). Az ivartalan szaporítóképletek kifejlődéséhez 20-25°C-os hőmérséklet, 92-97 %-os relatív páratartalom szükséges, melyek 6-8 óra alatt fertőzőképesek. 18-20°C-on és 20 órán át tartó felületi nedvesség esetén a konídiumok csírázni kezdenek. A fertőzés főként légáram által szállított konídiumokkal indul, de vizsgálták az ecetmuslica (*Drosophyla melanogaster*) (Louis *et al.*, 1996), az új-zélandi virágtripsz (*Thrips obscuratus*) (Fermaud és Gaunt, 1995), a szőlőmolyok (*Lobesia botrana*) (Fermaud és Le Menn, 1992), valamint a földközi-tengeri gyümölcsleány (*Ceratitis capitata*) (Engelbrecht, 2002) közvetítő szerepét is a betegség terjedésében. A konídium terjedése történhet a csapadék (esőcseppek) közbenjárásával is (Jarvis, 1962; Vercesi és Bisiach, 1982). A konidiális fertőzés mellett fontos a szaprofita-eredetű, micélium-jellegű

inokulum is, aminek nagyobb jelentősége is lehet, mint azt eddig feltételeztük. Urbasch (1985) szerint a mikrokonídium aggregátumok védő borítása nedves körülmények között ragacsossá válik, ami rátapadva a növényekre és rovarokra segítheti a gomba terjedését. Az elhalt, fertőzött növényi maradványok a talajfelszínen, valamint ezek szél-általi szállítása szintén jelentős kockázati tényezőt jelentenek (Bristow *et al.*, 1986, Johnson és Powelson, 1983). A felsorolt példákából láthatjuk, hogy a *B. cinerea* terjedése és a fertőzés létrejötte számos körülmény között lehetséges.

A csírázást és behatolást befolyásoló tényezők. Holz *et al.* (2007) leírása alapján a konídium növényi felszínen történő csírázása, behatolása, majd az inkubációs idő hossza a fertőzési folyamat fontos szakaszai. A csíratömlő a fertőzés után 1-3 órán belül fejlődésnek indul. Miután elérte a 10-15 μ m-es hosszúságot, de még a penetráció előtt, igen változatos alakú rögzítő képletek fejlődnek a csírázást követő 6 órán belül. Előapresszórium alakul ki (egy kissé duzzadt, átlátszó „csúcs”, mely a növényhez tapadva penetráló pecek képződését indukálja), majd 6 óra elteltével egyszerű apresszórium formálódik. Amennyiben külső tápanyagforrás áll rendelkezésre, 12 órával később ennek többsejtű formája fejlődik ki.

A fertőzési ciklus a konídium növényre kerülésével kezdődik, ahol csíratömlőt fejleszt, ami - elősegítve a behatolást - apresszóriummá alakul. A felszín áttörése előtt az első akadály a kutikula, ami a növény föld feletti részének teljes felületét fedi. A kutikula elsősorban kutint tartalmaz, ami egy oldhatatlan poliészter, valamint sok esetben egy hidrofób viaszréteg is fedi. A kutikulán a kórokozó által okozott fizikai sérülés, vagy mechanikai penetráció általában nem figyelhető meg, ami azt is jelzi, hogy enzimatis aktivitás is szükséges az ép növényi felszínen történő behatoláshoz. A kórokozó képes megbontani a viaszréteg, a kutin, a sejtfal, valamint a növényi sejt anyagát is, amihez számos enzim, metabolit és protein áll rendelkezésére. A témáról Nakajima és Akutsu (2014) írt részletes összefoglaló cikket.

A másik megközelítés a mechanikai behatolás elemzése. Van Kan (2005) áttekintést adott az egyes fertőzési szakaszok enzimatis támogatásáról, mely szerint az infekciós ciklus több szakaszra bontható. A folyamat az előzőekben leírtakhoz hasonló lépésekkel kezdődik, ezután a felszín alatti sejtek elhalnak, és a gomba elsődleges sérülést idéz elő. Ekkor nekrozist és védekezési választ indukálhat. Néhány esetben ez egy mindeddig ismeretlen hosszúságú nyugalmi szakasz kezdete, ezalatt a gomba fejlődése korlátozott. Ez a nyugalmi periódus lényeges jellemzője a virágzáskori fertőzésnek például szamóca esetében. A védelmi akadályokat megsértve a gomba erőteljes fejlődésnek indul, ami a növényi szövet gyors felbomlását eredményezi. Végül a gomba sporulálni kezd, megtermelve ezzel a következő fertőzéshez szükséges inokulumot. Optimális körülmények között egy fertőzési ciklus

mindössze 3-4 nap alatt befejeződik, a megtámadott növényi szövet típusától függően. Miután a kórokozó gazdanövényköre igen széles, az egyes enzimek és metabolitok, melyek elsődlegesen a gombától származnak, nem minden esetben játszanak szerepet a fertőzés folyamatában.

A fertőzés több lépésből áll, ezek a konídium kapcsolódása, csírázás, behatolás, növényi sejtek elpusztítása, primer lézió kialakítása, valamint az erre adott védelmi válasz a növény részéről, a kémiai védekezés megkerülése, a betegség kiterjesztése és a szövet lebontása.

A konídium valószínűleg fizikai interakció révén kapcsolódik a kutikulára, ahol két lépést lehet elkülöníteni. Elsőként egy enyhe tapadó erő lép fel a növény és a konídium felszíne között, ami megelőzi az inokulum vízfelvételét (Doss *et al.*, 1993). A második lépésben erősebb kötődés alakul ki (Doss *et al.*, 1995) pár órával az inokuláció után a konídium csírázását követően. A csíratömlő csúcsát egy szénhidrát- és proteintartalmú, rostszerű extracelluláris mátrix borítja (Doss *et al.*, 1995; Cole *et al.*, 1996; Doss, 1999; Prins *et al.*, 2000). Ez a mátrix kórokozó eredetű enzimeket tartalmaz (Gil-Ad *et al.*, 2001), ami a növény felszínét tapadóvá teheti (Doss *et al.*, 1995), megóvva ezzel a hifát a kiszáradástól, és a növényi válaszméchanizmusoktól.

A konídium csírázását számos tényező befolyásolja. Williamson *et al.* (1995) megállapították, hogy szabadon hozzáférhető felszíni nedvesség, vagy legalább 93%-os relatív páratartalom szükséges a csírázáshoz, valamint a növényi felszínen történő behatoláshoz. Salinas és Verhoeff (1995), Williamson *et al.* (1995), valamint Cole *et al.* (1996) megállapították, hogy a száraz konídiummal végzett fertőzés esetében, ahol a szabadon felhasználható víz nem állt rendelkezésre az inkubálás folyamán, a fejlődő csíratömlő rövid maradt a behatolás előtt. Azonban Harper *et al.* (1981), valamint Van den Heuvel (1981) vizsgálataiban vizes szuszpenzióval végzett fertőzéskor tápanyagok hozzáadására volt szükség, imitálva a növényi epidermiszen ejtett sebzést, ahonnan a tápanyagok kioldódnak. Benito *et al.* (1998) kísérletében, ha a konídiumot az inokulálás előtt 2-4 órán keresztül inkubálták foszfát- és cukortartalmú folyékony közegben, a paradicsom levelén nagyarányú csírázás és egyidejű fertőzés jött létre.

A gáz halmazállapotú vegyületek stimulálhatják a csírázást. Elad és Volpin (1988) összefüggést találtak az etilén-termelés szintje, valamint a szürkerothadás súlyossága között rózsánál. Hasonló eredményt kaptak Elad és Volpin (1988), valamint McNicol és Williamson (1989) szamóca, paradicsom, uborka és paprika, valamint fekete ribiszke esetében. Miután a jelenséget a növényi szövet öregedésével is összefüggésbe hozzák, illetve az etilén *B. cinerea*-ra gyakorolt hatását nem tanulmányozták bővebben, további molekuláris és biokémiai elemzés szükséges az eredmények tisztázására.

A kórokozó apresszóriumot képez a behatoláshoz, jóllehet nem magas szerveződésű képződményről van szó, ami több növénypatogén gombánál jellemző (Mendgen *et al.*, 1996). Számos szerző megállapította a hifacsúcs duzzadását és ezt egy apresszórium szerű struktúrának értelmezték (Akutsu *et al.*, 1981, Van den Heuvel és Waterreus, 1983, Cole *et al.*, 1996). Újabb mikroszkópikus és hisztokémiai (Tenberge *et al.*, 2002), valamint génfunkciós vizsgálatok (Gourgues *et al.*, 2004) rámutattak, hogy ezek a szerkezetek funkcionális apresszóriumként szolgálnak. A hifacsúcs duzzadása az ozmotikus szint emelkedésének következménye. A külső sejtfa szilárd rétegének hiányában a duzzanat nem képes olyan magas turgort létrehozni, mint a *Magnaporthe grisea* apresszóriuma esetében (Howard *et al.*, 1991, de Jong *et al.*, 1997). Az extracelluláris mátrix hozzájárulhat ahhoz, hogy a hifacsúcsban megtartott víz létrehozassa a duzzadást, mivel magas poliszacharid tartalma miatt rendkívüli nedvszívó képességgel rendelkezik.

Enzimikus hatások. A kórokozó elterjedése a növény felszínén aktív behatolással, valamint passzív bejutással történhet. Sebzéssel, vagy előzőleg más kórokozó általi fertőzés útján tud behatolni, de gázcserenyíláson át, vagy ép felszínen is át tud jutni. A kutikula kutint tartalmaz, ami viaszréteggel fedett zsírsavészter. Ennek fizikai károsítása, vagy egyszerű mechanikai behatolás a *B. cinerea*-ra általában nem jellemző (Williamson *et al.*, 1995, Cole *et al.*, 1996), emiatt enzimikus (kutinbontó) aktivitás szükséges az ép növényi felszínen át történő behatoláshoz (Salinas és Verhoeff, 1995; van der Vlugt-Bergmans *et al.*, 1997). Salinas (1992) monoklonális antitesteket alkalmazott egy 18kDa nagyságú kutinázzal szemben. Azt tapasztalta, hogy az inokulálás előtti alkalmazásnál a kialakult léziók száma csökkent gerbera virágok esetében. Mutánsoknál, ahol a kódoló gént kicserélték, a kutináz aktivitás nem volt megfigyelhető (Van Kan *et al.*, 1997). Ezek a mutánsok éppoly virulensek voltak, mint a vad izolátumok, mind a gerbera virágok, mind a paradicsom termése esetében, és a kórokozó behatoló képessége megmaradt (van Kan *et al.*, 1997). Bár Salinas megfigyelései (1992) még tisztázásra várnak, levonható a következtetés, hogy ez a 18 kDa móltömegű kutináz nem nélkülözhetetlen a penetrációhoz.

Egy másik enzim, aminek szerepe lehet a behatolásnál, a 60 kDa-os lipáz, ami indukálható alma kutinnal, valamint szőlőbogyó héjának komponenseivel. A témában Comménil *et al.* (1995, 1998, 1999) végeztek kutatásokat. Megállapították, hogy megfigyelhető a lipáz kutinbontó aktivitása, azonban világosan elkülöníthető kinetikus tulajdonságokkal rendelkezik, mint a fentebb tárgyalt 'tipikus' kutináz. Poliklonális antitestekkel végzett teszt során, az inokuláció előtt alkalmazva azt, a konídiumból fejlődő csíratömlő behatolása gátolt volt, az antitestek nem idézték elő a csírázást.

A növényi védekezés lehetőségei a szőlő példáján. A szőlő növény morfológiai, anatómiai és kémiai eszköztárral is rendelkezik, ami akadályt jelent a botritisz behatolásakor. Mlikota Gabler *et al.* (2003) több szempont alapján (a bogyók sűrűségét a fürtön belül, pórusok és lenticellák számát a bogyó felszínén, sejtrétegek számát és vastagságát az epidermiszen és a külső hipodermiszen, kutikula és viasz mennyiségét, a bogyóhéj protein-tartalmát, a botritisz-fertőzés előtti és utáni összfenol-tartalmát, valamint a fertőzés előtti és utáni katechol, valamint transz- és cisz-rezveratrol tartalmát a bogyóhéjban) értékelték 42 genetikailag eltérő fajtát és klónt. Kimutatták, hogy a pórusok száma negatív összefüggést mutat a rezisztenciával. A nagyfokú rezisztenciájú fajták bogyóinak felszínén csupán néhány pórus van, vagy egyáltalán nem található. A rezisztenciával pozitív korrelációt mutatott a sejtrétegek száma és vastagsága, valamint a kutikula és viaszréteg tartalom. A többi jellemző nem mutatott összefüggést az ellenállóképesség szintjével. A *B. cinerea* fertőzés csupán az érzékeny, illetve kevésbé ellenálló fajtáknál és klónoknál indukálta a transz- és cisz-rezveratrol-termelést.

A viaszréteg rezisztenciában betöltött szerepét vizsgálták Marois *et al.* (1986). A kísérletben összehasonlították a fürtön belül egymáshoz érő, illetve egymástól elkülönülő bogyók felszínén lévő viaszréteg vastagságát, valamint a *B. cinerea* fertőzésére való fogékonyságot. Azt találták, hogy az egymással érintkező bogyók felszínén a viasz többnyire amorf, viszont azoknál a bogyóknál, melyek nem tapadnak egymáshoz, a bevonat inkább lemezszerű. A bogyók inokulálását követően azt tapasztalták, hogy az egymással érintkező felületek esetében nagyobb arányú volt a fertőzés, mint a magukban álló bogyóknál. A fertőzésre való fogékonyság abban az esetben is megnőtt, ha az inokulálás előtt a viaszbevonatot kloroformba mártással eltávolították. Padgett és Morrison (1990) megállapították, hogy a bogyó bevonatának összetétele is változik a vegetáció alatt. Virágzás után a fenolos vegyületek és az almasav viszonylag nagy koncentrációban volt jelen, azonban arányuk alacsony volt az érett bogyón. A csökkenés mértéke gyorsabb volt a bogyónövekedés korai szakaszában, mint az érési idő alatt. A cukor és kálium koncentrációja alacsony volt a virágzás idején, de gyorsan növekedett az érés későbbi szakaszaiban. A felszint borító réteg vizes kivonata cukrokat, almasavat, káliumot és nátriumot tartalmazott, mely segítette a *B. cinerea* micélium-fejlődését. Az etanolos és éteres kivonat fenolokat és lipideket tartalmazott. Ezek a frakciók, melyeket a gyümölcsről gyűjtöttek be a virágzás utáni első három hétben, erősen gátolták a micélium-növekedést. Ez a gátló hatás csökkent a vegetáció későbbi időszakában.

A botritiszes fürtrothadásra való fogékonyság fiziológiai és anatómiai tényezőktől is függ. A fajtáknál egyre növekvő fogékonyság figyelhető meg, azonban közöttük eltérés mutatkozik, különösen az érett terméssel összefüggésben. Ezt az eltérést tanulmányozták Sarig *et al.* (1998).

A bogyóhéj anatómiai vizsgálata igazolta a mesterséges inokulációt követő *Rhizopus stolonifer*-rel szembeni rezisztencia, valamint a héj vastagsága közötti korrelációt, ami az epidermisz és hipodermisz sejtrétegeinek számától és a sejtsűrűségtől függ. Arra a következtetésre jutottak, hogy a bogyó és a kocsány által bezárt szög mint morfológiai tényező összefüggést mutat a rezisztenciával. A hegyes szög lehetővé tette a spórák felhalmozódását és a kórokozó számára kedvező mikroklíma kialakulását, ami elősegítette a gomba fejlődését. Ezzel szemben a tompaszög nem tette lehetővé e körülmények kialakulását, és a bogyó egészséges maradt a spóraszuszpenzióba történő mártást követően is. A fajtától, valamint az időbeli eltéréstől függő csersavtartalom, illetve fitoalexin termelés összefüggött a rezisztenciával.

Az anatómiai tényezők mellett, hogy az egyes fajták egymástól való megkülönböztetésére is szolgálhatnak, eltérést okoznak a fotoszintetikus aktivitásban, szárazság okozta stresszben, de a betegségekkel szembeni rezisztenciában is. Boso *et al.* (2011) felhívták a figyelmet arra, hogy a különbségeket komolyan kell venni, és aprólékos gondossággal szükséges elemezni. Ezt a megközelítést tükrözi Jürges *et al.* (2009) kutatása is, akik a szőlő különböző szövetei és a *Plasmopara viticola* közötti interakciót tanulmányozták, vagy Rügner *et al.* (2002) munkája, ahol a különböző növényi szervekben hasonlították össze az *Erysiphe necator* növekedését és fejlődését.

Anatómiai tényezők több gomba fertőzésére is pozitív hatással lehetnek. A *Vitis* nemzetségen belüli variabilitást tanulmányozták Boso *et al.* (2011) pásztázó elektron mikroszkóppal. Összehasonlították 11 *vinifera* és három nem *vinifera* fajta leveleinek tulajdonságait, így mérték a sejtek sűrűségét, sejtfelszín területét, valamint sztómasűrűséget és sztóma-felszín területet a levél mindkét síkján. Megállapították, hogy a nagyfokú rezisztenciát mutató 'SO4', a rezisztens '110-Richter', az enyhén fogékony 'Cabernet sauvignon' és 'Chasselas' szőlőfajtáknál a sztómasűrűsége magas, míg az igen fogékony 'Caño Blanco' és 'Treixadura' alacsony sztómasűrűséggel bír. Ez összefügg a korábbi munkák eredményeivel is, amikor megállapították, hogy nincs kapcsolat a sztómák száma és a *P. viticola*-val szembeni rezisztencia között. A zoospórák sztómák közelébe jutása inkább a gazdanövény kiválasztott anyagának függvénye (kemotaxis). A viaszréteggel kapcsolatban leírták, hogy az előző irodalmaknak ellentmondva a legvékonyabb bevonatot a leginkább rezisztensnek mondott 'Cabernet sauvignon' és '110-Richter' fajtákon találták, bár a korábbi kutatások a gombás fertőzésre adott növényi válaszra fókuszáltak a viasztermelés vonatkozásában. Szintén Boso *et al.* (2011) tanulmányozták különböző *Vitis vinifera* fajták és egyéb *Vitis* fajok peronoszpóra fogékonyságát. Ez alkalommal szabadföldi, üvegházi és laboratóriumi tesztek végeztek. Nem találtak összefüggést a peronoszpórára való fogékonyság és a bogyószín, valamint a fajta

eredete között. Nem volt kapcsolat a rügyfakadás és az érés ideje illetve a fogékonyság között. Eltérés mutatkozott azonban az egyes évjáratok között néhány *V. vinifera* fajta esetében.

V. vinifera fajták *Plasmopara viticola* fertőzésre adott válaszát vizsgálták Gindro *et al.* 2003-ban, ahol mesterségesen fertőzött 'Chasselas' (fogékony) és 'Solaris' (rezisztens) leveleket tanulmányoztak SEM-mel, fénymikroszkóppal, valamint epifluoreszcensz mikroszkóppal. Megállapították, hogy a fogékony fajtán 7 órával a fertőzés után a hifacsúcs behatolt a sztómán, míg a rezisztens 'Solaris'-on a csíratömlőt elkezdte bevonni a sztóma szekrétuma, ami kallózt tartalmaz. 24 órával később a 'Chasselas'-n nem tapasztaltak változást, míg a másik fajtánál a szekrétum teljesen beborította a zoospórákat. 120 órával a fertőzés után a 'Chasselas'-n a peronoszpóra teljesen kifejlődött, viszont a 'Solaris' esetében sporangioforumok nem voltak láthatók, valamint előbbi fajtánál a sztómák épek voltak a fertőzött terület körül, azonban a rezisztens fajta sztómáit bevonta a szekrétum. A 'Chasselas'-n intenzív sporulációt figyeltek meg, míg a 'Solaris'-on nekrozisokat találtak sporuláció nélkül. Ebből azt a következtetés vonták le, hogy a peronoszpóra nem képes életciklusa befejezésére a rezisztens fajtán. Ez összefügghet a gyors védekezési válasszal, ami megkezdődik, mielőtt a zoospóra csíratömlője behatol a sztómán. Ennek eltömődése nagyon gyorsan elkezdődik, ahogy a zoospórák beburkolása is. Ezt a reakciót nem figyelték meg a fogékony 'Chasselas'-n. Arra a következtetésre jutottak, hogy a kallóz gyors szintézise a fertőzés utáni gyors reakcióra utal, ami általános a *Vitaceae* család esetében a rövid idő alatt végbemenő, nagy mennyiségű fenolos vegyületeinek, mint a flavonoidok és a stilbén fitoalexinek képződésével áll kapcsolatban.

Anatómiai, biokémiai és molekuláris tényezők is szerepet játszanak az ellenálló képesség kialakulásában. Boso *et al.* (2011) megállapították, hogy a vékonyabb és eltérően rendeződő lakunáris parenchyma rétegnek is szerepe lehet. Gindro *et al.* (2006) szerint a fogékonyágbeli különbséget biokémiai és szövettani különbségek okozzák. A világszerte hasonló témában végzett kutatások alátámasztják, hogy a szőlő gombabetegségekkel szembeni rezisztencia folyamatai összetettek, hiszen több tényező is közrejátszik abban, hogy egy szőlő növény hogyan védekezik a betegségek legyőzésére.

A szőlő szaporítóanyag előállítása közben fellépő gombafertőzések ellen a növényanyag gombaölőszeres áztatása az általánosan alkalmazott gyakorlat, emellett azonban a *Botrytis cinerea* fungicid rezisztenciáját már a 60-as évek óta megfigyelték. Ezt a megfigyelést Németországban (Kretschme-Hahn, 2008) és Horvátországban (Topolovec-Pintari, 2009) is kimutatták, valamint a rezisztencia kialakulásának folyamatát is leírták (Nagehan-Desen *et al.*, 2012).

A kórokozó gyors reprodukciója, a növekvő fungicid rezisztencia, illetve az Európai Unió, az engedélyezett vegyi anyagok körét érintő szabályozás miatt szükségessé vált egy környezetbarát technológia kidolgozása.

3.3 Alternatív védekezési lehetőségek

Tárolási betegségek, illetve a *B. cinerea* fertőzésének környezetkímélő módszerekkel történő megelőzésére és visszaszorítására több csoport is végzett kutatásokat. Kísérleteket állítottak be ecetsavval (Sholberg és Gaunce, 1995), UV-C fénnel (Nigro *et al.*, 1998, L. Farkas és Kocsis, 2013), hőkezeléssel (Lurie, 1998), kombinált kezelésekkel (Wszelaki és Mitcham, 2003), etanolos párástítással (Chervin *et al.*, 2005) és gyógynövénykivonatokkal (Gatto *et al.*, 2011).

Sholberg és Gaunce (1995) az ecetsav hatását vizsgálták *Botrytis cinerea* és *Penicillium expansum* gombákra alma tárolási betegségeivel összefüggésben. Azt találták, hogy légtértelítéssel végzett fertőtlenítés 2 mg/liter koncentrációban megakadályozta a *B. cinerea* okozta léziók kialakulását Red Delicious és Spartan almafajtáknál 1 és 5 °C-on történő tárolásnál, míg *P. expansum* esetében 1 °C-on 2.7 mg/l, 5°C-on pedig 4.0 mg/l volt szükséges a kívánt hatás eléréséhez. A léziók kialakulásakor az almafajták között különbséget tudtak kimutatni.

Nigro *et al.* (1998) csemegeszőlőn alkalmazta az UV-C fény fertőtlenítő hatását. A kezelést 30W névleges teljesítményű izzókkal végezték, a bogyókat pedig a kezelés előtt, közvetlenül utána vagy 24 órával később felsértették. Eredményeik szerint a léziók kialakulására, valamint azok nagyságára is hatással volt a dózis és a sebzés ideje is.

Az etanol gátló hatásával több csoport is foglalkozott. Chervin *et al.* 2005-ben Chasselas fajta tárolására állítottak be kísérletet, ahol azt az eredményt kapták, hogy potenciális lehetőségek vannak a módszerben, és a kén-dioxiddal történő kombináció lehetőségét is felvetették.

3.3.1 UV-C fénnel történő kezelés

Az UV-C besugárzás egy viszonylag új környezetbarát eljárás. Számos esetben bizonyították hatékonyságát a gombakórokozók elleni védekezésben. Szamóca (Jin *et al.*, 2017), kivi (Bal-Kok, 2009) és csemegeszőlő (Romanazzi *et al.*, 2011) tárolási betegségét, valamint a szőlő rezveratrol tartalom és a szürkerothadás elleni rezisztencia összefüggéseit (Shiraishi *et al.*,

2010) is tanulmányozták a kezeléssel összefüggésben. Klärner *et al.* (2015) beszámoltak róla, hogy egy külön erre a célra kifejlesztett berendezéssel végeztek UV-C kezeléseket szőlőültetvényben. A prototípus egy permetezőgépre vertikálisan és horizontálisan ráépített armatúra, amivel elsősorban a *Botrytis* elleni védekezés lehetőségeit kombinálták. Eredményeik azt mutatták, hogy a botriticid szerek melletti kiegészítő eljárásaként alkalmazva 82 %-os hatékonyságot tudtak elérni, ami az integrált növényvédelmi protokollhoz viszonyítva 51 %-kal eredményesebbnek bizonyult. Megemlítik azonban, hogy miután az UV-C fény nem szelektív és az összes élő szervezet sérülhet általa, a szőlő növényen élő ökoszisztémára gyakorolt hosszú távú hatást is szükséges tanulmányozni.

A kutatócsoport (Berkelmann-Löhnertz *et al.*, 2015) azt is megállapította, hogy járulékos hatásként a szükséges vegyszeres kezelések jelentős mértékben (>50%) csökkentek. Emellett a kezelés hatására a leveleken a peronoszpóra (*P. viticola*) sporangiumtartóinak mennyisége csökkent, közvetett hatásként pedig az UV-C által indukált stilbén-szintézist detektáltak, ami a növény kórokozókval szembeni ellenálló-képességének egyik alappillére. Amalfitano *et al.* (2000) a levelekben található *trans*-rezveratrol és *ε*-viniferin képződését mérte a gombafertőzésre adott válaszreakciókban. UV sugárzás hatására az egészséges és az ESCA-val fertőzött szőlők fás szöveteiben is kimutatták ezen stressz-metabolitok felhalmozódását. Az UV fény indukálta *trans*-rezveratrol kalluszkultúrákban megjelenő mennyiségét tanulmányozta Keskin és Kenter (2008, 2009, 2010) különböző szőlőfajták esetében. Azt tapasztalták, hogy a 10 percig tartó megvilágítás 'Cabernet sauvignon' 12 napos kallusz szövete esetében indukálja a képződést, míg 'Kalecik karasi' fajtánál a 12 és 15 napos kalluszok esetében 10 percen át tartó UV-C kezelés 2,5-szeresére emelte a *trans*-rezveratrol szintet. 'Öküzgözü' fajtánál a 12 napos kallusz kultúrák 15 percig tartó kezelése hatására emelkedett legnagyobb mértékben a mennyiség.

A fény egyéb tartományainak hatását is számos kutatási eredmény tárgyalja. A 405 nm hullámhosszúságú, látható tartományba tartozó fény antifungális hatásával foglalkozott egy csoport (Imada *et al.*, 2014), és a kutatók arra az eredményre jutottak, hogy a szóban forgó hullámhossz inaktiváló hatása révén csökkentette a tünetek megjelenését *Botrytis*-sel inokulált paradicsom levelein. A legteljesebb leírást a témáról Schumacher (2017) összefoglaló cikkében olvashatjuk. Figyelemre méltó, hogy a kórokozó morfológiai szempontból mennyire széleskörűen reagál a fényre. Tizenegy potenciális PR (photoreceptor), kettő CRY (cryptochrome), négy LOV (light, oxigen, voltage), kettő OP (opsin) és három PHY

(phytochrome) mechanizmussal rendelkezik, így különbséget tesz a közeli UV, a kék, a zöld, a piros és a távoli vörös fény között, és azok egymáshoz viszonyított arányát is képes érzékelni.

3.3.2 Növényi kivonatok hatása

A humán gyógyászat régóta számon tartja a gyógyhatású növényeket. A fejlett országokban a szintetikus előállított hatóanyagok alkalmazása mára megszokottá vált, azonban a világ teljes népességét tekintve e természetes alapanyagok tradicionális felhasználása jellemző (Bernáth, 1993).

Bernáth (1993) megfogalmazása szerint a növényben, növényi drogban jelen lévő összes anyagot beltartalmi vagy tartalmi anyagoknak nevezzük. Ezek közül azokat nevezzük hatóanyagoknak, melyeknek hatása bizonyítható, ezt a terminológiát a hazai szakirodalom is követi. Emellett meg kell jegyeznünk, hogy a növényekben jelen lévő vegyületeket abban az esetben tekintjük hatóanyagoknak, ha az azt tartalmazó növényi részt ezeknek a felhalmozódása miatt hasznosítjuk. Hatásukért egy, de akár több vegyület is felelhet, és alkalmazásuk szempontjából lényeges ezek összetétele. A kísérőanyagok jelentősen befolyásolják a hatást, ami mellékhatásként, vagy nem kívánt hatásként is megjelenhet.

Primer és szekunder anyagok csoportjairól is beszélhetünk. Előbbiek nélkülözhetetlenek az élethez, az anyagcsere során elsődlegesen képződnek, míg utóbbiak az élet szempontjából nem nélkülözhetetlen különleges anyagok. Az anyagcsere folyamatait nem lehet azonban mereven elválasztani egymástól. Vannak közöttük olyanok, melyek minden élőben végbemennek, olyanok, melyek mindegyik növényben, vagy azoknak egy nagyobb csoportjában, de akad olyan is, mely speciálisan csak egy fajban zajlik le. Ezen univerzális vagy speciális jelleg megjelenik mind az anyagok képződésében, mind felhalmozódásukban.

Bernáth (1985) doktori értekezésében foglalkozott az ökológiai tényezők speciális anyagok termelődésére gyakorolt hatásaival. Megállapította, hogy a gyógynövények, mint minden élő szervezet, szoros kapcsolatban állnak környezetükkel, és ennek megfelelően reagálnak annak változásaira. A biotikus és abiotikus (talaj és tápanyagok, víz, hőmérséklet, fény) tényezők hatására változik a szárazanyag-produkció, a növényi szervek aránya, és a hatóanyagok mennyisége, illetve ezeknek következtében válaszreakcióként megjelenhet a felhalmozódott hatóanyagok és egyéb összetevők sokfélesége, valamint mennyiségükben és minőségükben megnyilvánuló változások. A téma szerteágazó és terjedelmes volta, és a dolgozat korlátozott terjedelme miatt nem térünk ki részletekre, azonban felhívjuk a figyelmet a gyógynövények

termesztéstechnológiájának fontosságára, ami hatással van a felsorolt befolyásoló tényezők mindegyikére.

A gyógynövények hatóanyagainak rendszerbe sorolása régóta foglalkoztatja a szakembereket, ennek megfelelően négy csoportról beszélhetünk: alkaloidok, glikozidok, illóolajok és egyéb hatóanyagok. Ezek származási kapcsolatait a biogenetikai csoportok alapján határozhatjuk meg. A legfőbb növényianyag-csoportok a i.) szacharidok, ii.) fenoloidok, iii.) poliketidek, iv.) terpenoidok és v.) azotoidok (Bernáth, 1993).

A növényvédelem szintetikus előállított hatóanyagai mellett egyre nagyobb szerephez jutnak a növényekből természetes úton kivonható anyagok. Számos irodalmi adat áll rendelkezésre az egyes növényfajok növénykórokozókkal szembeni kisebb-nagyobb mértékű baktericid, bakteriosztatikus, illetve fungicid, fungisztatikus hatásával kapcsolatban.

A legtöbb külföldi és hazai kutatás a növényi illóolajokkal kapcsolatos, azonban ezek hatékonysága mellett fitotoxikus hatásukat is megfigyelték (Omidbeygi *et al.* 2007). Számos egyéb kivonatot is kísérletbe vontak (Wilson *et al.* 1997, Özcan és Boyraz 2000), többek között vizes, alkoholos és egyéb oldószerek felhasználásával (Haouala *et al.* 2008, Gatto *et al.* 2011). A legtöbb hasonló jellegű kutatás a keleti kultúrák gyógyászatában alkalmazott gyógynövényfajokkal történt (Yin-Tsao, 1999, Lee *et al.* 2007, Seu-Batra 2012, Alves-Silva *et al.* 2013). Az európai növényfajok közül Fekete *et al.* (2009) *Fusarium* ellen a fodormenta (*Mentha spicata* var. *crispata*) és a borsosmenta (*Mentha x piperita*), Cseh *et al.* (2014) *B. cinerea* ellen kerti kakukkfű (*Thymus vulgaris*) hatását tanulmányozták. Hochbaum és Nagy (2014) szabadföldi körülmények között a monília virágelhalás, ventúriás varasodás és tafrinás levélfodrosodás elleni védekezés lehetőségeként kakukkfű mellett fahéj és narancs illóolaját alkalmazta.

Kasmi *et al.* (2017) gyógynövényeket teszteltek paradicsom szürkepenészes rothadása ellen. A kakukkfű (*Thymus vulgaris*) vizes kivonata hatékonyan alkalmazható az ökológiai védekezésben, azonban a citromfű használatával csekély mértékben óvható meg a növény. Shabana *et al.*, (2015) több gyógynövénnyel együtt vizsgálta a kakukkfű hatását *B. cinerea* ellen víz, metil alkohol és etil acetát használatával és azt találták, hogy a kivonószerek együttes alkalmazása esetén a kivonat a kontrollhoz képest szignifikánsan gátolta a kórokozó növekedését. Ertürk (2006) kutatásaiban fűszernövények etanolos kivonatai szerepeltek. Antifungális hatásuk eredményei azt mutatták, hogy erős gátló hatással rendelkezett a menta

(*Mentha × piperita*) az *Aspergillus niger* és a *Candida albicans* kórokozókkal szemben, míg a citromfű (*Melissa officinalis* L.) mérsékelt inhibíciós hatással bírt. A citromfű illóolajat azonban sikeresen alkalmazták *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* és *Rhizopus stolonifer*, az alma tárolás betegségeinek kórokozói ellen (El Ouadi *et al.* 2017). Sesan *et al.* (2015) fekete ribiszke botritiszes betegsége ellen gyógynövények vizes-alkoholos kivonatait alkalmazták. Sem *in vitro*, sem *in vivo* tesztben nem volt hatásos a *Rosmarinus officinalis* kivonat a kórokozó növekedésének gátlásában, hasonlóan Daferera *et al.* (2003) eredményeihez, ahol a *Botrytis cinerea* és a *Fusarium* sp. fejlődése ellen is gyengének bizonyult a *Salvia officinalis* és a *Rosmarinus officinalis* illóolaja. A zsálya illóolajával állítottak be kísérleteket fonalas gombák növekedésének gátlására, ahol *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* és *Fusarium* fajok esetében is antifungális hatást mutatott (Pinto *et al.*, 2007). *R. officinalis* levelének kivonata több *Phytophthora* faj zoospórájának csírázását is gátolta, azonban ezzel ellentétben sem a *B. cinerea*, sem a *Trichoderma asperellum* konídiumokat nem akadályozta a csírázásban (Widmer-Laurent, 2006).

A kutatásokban gyakran vizsgált gyógynövények a Lamiales (árvacsalán-virágúak) rend Lamiaceae (ajakosok) családjába tartozó fajok. Jellemző hatóanyagaikat az irodalmi adatok alapján – a teljesség igénye nélkül - az 1. táblázatban mutatjuk be.

1. táblázat. A vizsgálatok során alkalmazott gyógynövények hatóanyagai.

Növényfaj	Hatóanyag	Forrás
<i>Melissa officinalis</i> L.	illóolajok, monoterpének, szeszkviterpének, nerál, geraniál, citronellál, citrál, geraniol, linalool, kávésav, rozmaring- és más fenolkarbonsavak, triterpének, flavonoidok	Abdellatif et al. 2014, Rácz et al. 1992, Rápóti-Romváry 1980, Bernáth 1993
<i>Mentha × piperita</i> L.	illóolajok, mentol, menton, piperiton, mentofurán, pinén, sabinén, flavonoidok, mentil acetát, 1,8-cineol, polifenolok, rozmaringsav, más kávésavszármazékok, nikotinsav, klorogénsav	Marwa et al. 2017, Rácz et al. 1992, Rápóti-Romváry 1980, Bernáth 1993
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	illóolajok, cserzőanyag, fahérjsavszármazékok (rozmaringsav, neoklorogénsav, kávésav), flavonoidok (apigenin, luteolin, ezek glikozidjai), triterpének (epi- alfa-amirin, ursolsav), diterpenoid (karnozolsav), keserűanyag és alkaloid (rozmaricin), 1,8-cineol, kámfor, borneol, bornil-acetát, alfa- és béta-pinén, kamfén, linalool, monoterpének, eukaliptol, szaponin, nikotinsav	Takayama et al. 2016, Rácz et al. 1992, Rápóti-Romváry 1980, Bernáth 1993
<i>Salvia officinalis</i> L.	illóolajok, alfa- és béta-tujon, borneol, cineol, kámfor, pinén, cseranyag, keserűanyag, glikozidok, flavonoidok, gyanta, 1,8-cineol, szeszkviterpén, szeszkviterpén-szénhidrogén, viridiflorol, diterpén-karbonsavak, polifenol, rozmaringsav, eukaliptol, katekincsersav, savanyú-glikozida, glikozida, fumársav, urzolasav, oleandolsav, oxitriterpénsav, klorogénsav, kávésav, nikotinsav, nikotinsavamid	Ben Khedker et al. 2017, Rácz et al. 1992, Rápóti-Romváry 1980, Bernáth 1993
<i>Thymus vulgaris</i> L.	illóolajok, timol, karvakrol, p-cimol, borneol, linalool, cineol, észterek és savak, cseranyag, keserűanyag, gyanta, szaponin, glikozid, flavonoid, rozmaringsav, tannin, terpenoid, pinén, mentén	Basch et al. 2004, Rácz et al. 1992, Rápóti-Romváry 1980, Bernáth 1993

4 ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1 Szövetteni vizsgálatok

4.1.1 A szőlővessző morfológiája

4.1.1.1 A nódusz felépítése – a levél, a téli rügy, a hónaljajtás és a kacs izesülése

A szőlővessző oldalait Teleki 5C fajtán elemeztük. A hajtásokat a módosított JB-4 beágyazási protokoll (Sullivan-Brown *et al.* 2011) szerint dolgoztuk fel. Borotvapengével 1mm vastagságú szeletekre vágtuk fel a teljes nóduszt a hajtás tengelyére merőlegesen. A mintadarabokat Eppendorf csövekbe tettük, melyekbe előzőleg módosított Karnovsky fixálófolyadékot (2% PA and 2% GA in 100 mM nátrium kakodilát puffer, pH 7.2) töltöttünk. A mintákat három órán át fixáltuk szobahőmérsékleten, vákuumpumpa használatával. Fixálás után a mintákat pufferfolyadékban (nátrium kakodilát puffer, 100 mM, pH 7.2) mostuk 4 alkalommal 10 percen át. Ezután emelkedő koncentrációjú alkoholsorban víztelenítést végeztünk. Ehhez egy-egy alkalommal, 20 percen át 30%, 40%, 50%, 60% és 70%-os etanolt használtunk, majd két-két alkalommal, 30 percen át 80%, 90%, végül 100%-os etanollal végeztük a műveletet.

Ezután az infiltrálás következett növekvő koncentrációjú infiltráló oldattal (JB-4 Solution A and benzoil peroxid) és csökkenő koncentrációjú etanollal. Ezt hat lépésben, egyenként 30 percen át végeztük, amiből az utolsó három lépés tömény infiltráló folyadékban történt.

A beágyazást infiltráló folyadék és JB-4 Solution B oldatok keverékében végeztük, egy éjszakát hűtőszekrényben, 2 °C hőmérsékleten tartva a mintákat. A megszilárdult műanyag blokkokat a kívánt méretre és formára vágtuk, majd egyesével fakockákra ragasztottuk, melyek alakja a rotációs mikrotóm (R. Jung Ag. Heidelberg) befogó tokmányának megfelelően volt kialakítva.

A levágott metszeteket 40°C hőmérsékletű vízfürdőbe tettük, és ráúsztattuk mikroszkóp tárgylemez felszínére. A kiszáradt metszeteket toluidin-kék festékkel festettük, Roti®-Histokitt II. (Roth) fedőanyagot cseppentettünk a felszínre, majd fedőlemezzel lefedtük.

4.1.1.2 Kalluszfejlődés

A morfológiai vizsgálatához a 2. táblázatban felsorolt, a Davis-i University of California (UC Davis), Foundation Plant Service-től származó szőlőalanyok nyugalomban lévő vesszőit dolgoztuk fel.

2. táblázat. A morfológiai szempontból vizsgált szőlőfajták és származásuk (Kocsis, szóbeli közlés; Riaz *et al.*, 2019)

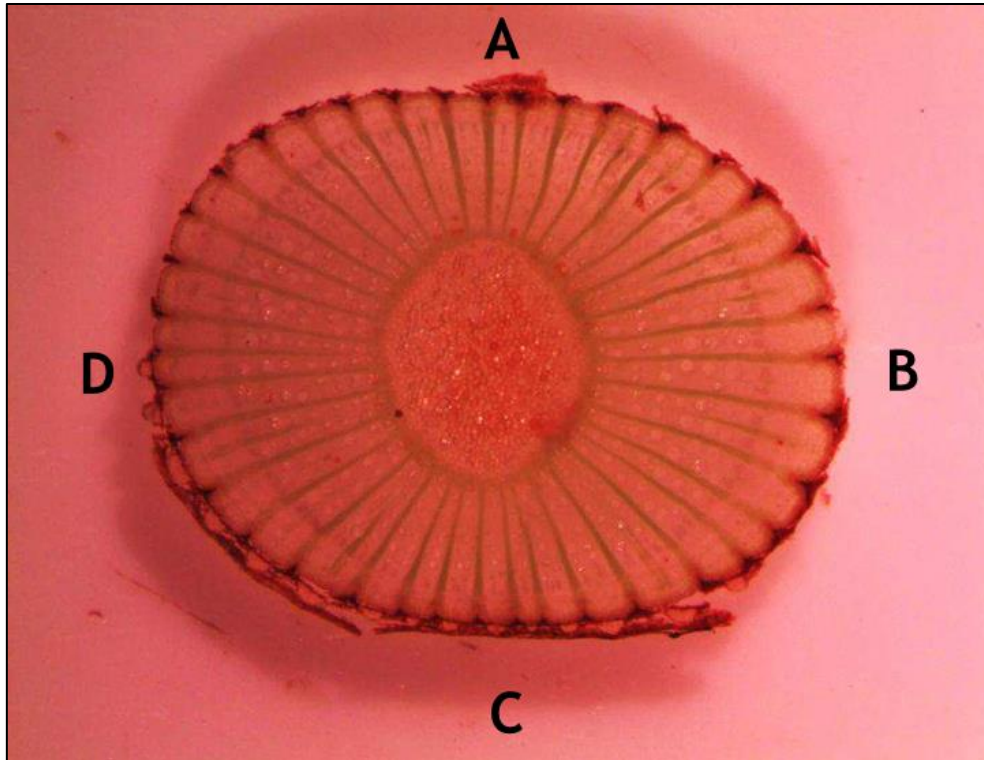
	Szőlőfajta	Származás
1.	St. George	<i>Vitis rupestris</i> Scheele
2.	Millardet et Grasset 101-14	<i>V. riparia</i> L. x <i>V. rupestris</i>
3.	Teleki 5C	Rességuier 2 × Gloire de Montpellier
4.	420A Mgt	<i>V. berlandieri</i> Planch. x <i>V. riparia</i>
5.	110 R	<i>V. berlandieri</i> x <i>V. rupestris</i>
6.	Freedom	szabad beporzású magonc 1613 C × szabad beporzású magonc Dog Ridge

Az 1°C-on történő tárolás után 8mm átmérőjű egyedeket válogattunk ki a teszteléshez.

Fajtánként 5 vessző kalluszosodását figyeltük meg három ismétlésben. Ezeket 5 cm-es darabokra vágtuk, majd a mintákat Petri csészékbe helyeztük nedves szűrőpapírra, és változó időtartamig 27°C-on, 100% relatív páratartalom mellett tartottuk. A fejlődő kalluszsövet tömegét mértük.

4.1.1.3 A fa/bél arány jellemzése

Kötegenként 5 vesszőt vizsgáltunk. A keresztmetszeteket Microm HM 340E rotációs mikrotómmal (Microm, Walldorf, Germany) készítettük, majd digitális tolómérővel lemértük. A vesszők átlagos méreteit két helyen mértük, a levéloldal és hónaljajtás oldal közötti, valamint a téli rügy oldal és kacsoldal közötti átmérőt (1. ábra).



1. ábra. Baco noir vessző keresztmetszeti képe. Vessző oldalainak jelölése: A: téli rügy oldal; B: hónaljajtás oldal; C: kacs oldal; D: levél oldal.

A vessző oldalainak elnevezését a dolgozat későbbi részében részletesen ismertetjük.

A friss metszeteket a vágási felületen szkenneltük, majd WinRHIZO szoftverrel (Regent Instruments Inc., Ontario, Canada) elemeztük. A program lehetővé teszi a specifikusan meghatározott színű minták területének mérését. A színelemzés inkább hozzávetőleges, mint pontos mérésen alapult, a számunkra érdekes anatómiai jellemzőknek megfelelően végeztük a színosztályozást. Két szintet használtunk: a friss farészhez hasonlító zöldet, ami magában foglalta a kérget és a vaszkuláris szövetet, illetve a bél színének megfelelő barnát. A periderma, aminek a bélhez hasonló színe van, olyan kicsiny méretű a bélhez viszonyítva, hogy annak területbecslésekor nem okozott mérési hibát.

4.1.2 A szőlővessző anatómiája

4.1.2.1 Növényi anyag

A megfásodott szőlővessző anatómiai jellemzőinek tanulmányozásához az internódiumok szöveti szerkezetének tulajdonságait hasonlítottuk össze két módszer alapján. E két

vizsgálathoz a növényanyagot 2013-ban Alháros, Dorgó 1805, Kober 5BB, Teleki 5C, Couderc 161-49, B × R CR26, Paulsen, Grand glabre, Riparia × Rupestris 3303C, *V. rupestris* Forthworth, Rupestris Martin, Couderc 1616 Male, Ganzin 1, Georgikon 28, Fercal és Baco Noir fajtákból, illetve 3 évben, 2013-ban, 2014-ben és 2016-ban gyűjtöttük a 2. mellékletben felsorolt fajtákról a Georgikon Tanüzem csereszegtomaji kísérleti szőlőtelepén, fejművelésű tőkéről. A fajták szaporítási fokozata certifikált volt. Az ültetvény talaja dolomiton képződött barna erdőtalaj az adott területen. A növényállomány üzemi szintű tápanyagutánpótlásban és növényvédelemben részesült.

4.1.2.2 Metszetek készítése

Vizes metszetek

Szánkás mikrotómmal 80 µm vastagságú metszeteket készítettünk, melyeket vizes fürdőbe merítettünk. A mintákat ecsettel tárgylemezre helyeztük, és fedőlemezzel lefedtük. A metszeteket binokuláris mikroszkóppal (Nikon SMZ 800) elemeztük.

Méréseinknél Schenk (1976) módszerét vettük alapul, aki a szőlővessző négy oldalán megfigyelhető morfológiai különbségek kallusz fejlődésére gyakorolt hatását tanulmányozta. Ennek leírására kialakított egy jelölési rendszert, amivel a kalluszfejlődés intenzitását szemléltette. Ezt a rendszert saját vizsgálatainkhoz igazítva módosítottuk, ahol a vessző négy oldalán észlelt morfológiai különbségeket jellemeztük. Egy skálát alkalmaztunk annak jelölésére, hogy az élő kéreg (floém) arányaiban hogyan viszonyul a fás szövethez (xilém + floém). Az egyes fajtákat négy osztályba soroltuk az alábbiak szerint:

floém/ xilém + floém $\times 100 < 10$ + nagyon vékony

floém/ xilém + floém $\times 100 < 20$ ++ vékony

floém/ xilém + floém $\times 100 < 30$ +++ közepesen vastag

floém/ xilém + floém $\times 100 \geq 30$ ++++ vastag

JB-4 módszer

A növényi mintákat a JB-4 beágyazó kit (Polysciences, Germany) leírásának megfelelően dolgoztuk fel. A vesszőket borotvapengével daraboltuk, ezután 1,5 ml-es Eppendorf csövekben lévő, módosított Karnovsky fixálószerbe helyeztük. Vákuumpumpában eltávolítottuk a levegőt a szövetekből. A folyamatot követően szobahőmérsékleten, 4-szeri, 10 percen át tartó áztatással

eltávolítottuk a mintákból a fixálószer 100 mM kálium kakodilát pufferrel (pH 7.2). Az említett munkafázisokat lamináris elszívófülkében végeztük el.

A **fixálás** a bomlási folyamatoktól óvja meg a szöveteket. Ehhez a fixáló folyadékból 1,5-1,5 µl-nyi mennyiséget (Karnovsky fixálószer, 2% PA és 2% GA 100 mM kakodilát pufferben) 2 µl-es Eppendorf csövekbe töltöttük.

A mosás 4. fázisa után a lezárt csöveket hűtőszekrénybe helyeztük 4°C-ra, a puffert a minták későbbi felhasználásáig kétnaponta cseréltük.

Dehidrálás során a növényi részekből a víz eltávozik. Ehhez a mintákat a rögzítőszer kimosása után emelkedő koncentrációjú alkoholsorba helyeztük. 30%, 40%, 50%, 60% és 70%-os etanolban 20 percig, majd 80%, 90% és 100%-os etanolban 2×30 percig tartottuk.

Infiltrálás során a növényi szövet teljes mértékben átítatódik az infiltráló oldattal. Ez a folyadék az oldat és etanol keverékéből áll, ami az előbbi komponenst emelkedő arányban tartalmazza. Ezek az arányok 50-50%, 25% etanol - 75% infiltráló oldat, majd 10% - 90% arány következik, végül 3-5 alkalommal infiltráló oldattal végezzük az eljárást, ami a minta vastagságától és keménységétől függ. Valamennyi lépés 30 percig tart.

Beágyazás. A beágyazó oldatot a JB-4 beágyazási protokoll alapján készítettük el.

A megfelelő mértékű polimerizációhoz anaerob körülmények szükségesek. Ehhez egy légmentesen lezárható öntőformát használtunk. A polimerizáció idejére az eszközt 4°C hőmérsékletre hűtőszekrénybe helyeztük.

A minták beágyazásához a kisméretű JB-4 öntőformát (Polysciences, Inc.) használtuk, amibe mélyedésenként 1,5-2 ml oldat került. A mintát a mélyedés aljára helyeztük a metszet-készítés szempontjából optimális helyzetben, majd felöntöttük oldattal, és lefedtük, és a fedélen lévő nyíláson keresztül a hiányzó folyadékot pótoltuk, és a mintát a megfelelő helyre igazítottuk.

Megszilárdulás után a mintákat kivettük az öntőformából, pengével formára alakítottuk, majd az előkészített, jelölt fakockákra ragasztottuk.

Metszetkészítés. A beágyazott mintákból rotációs mikrotómmal (Jung AG, Heidelberg, Germany) készítettünk metszeteket, Leica HM, 16 cm/d kés használatával.

A folyamat leírása. A vízfürdőt (GFL 1052, Germany) feltöltöttük kétszer desztillált vízzel, amit 42-45°C-ra melegítettünk. Metszetek készítettünk 10µm vastagságban, amiket csipesszel beletettük a vízfürdőbe, ahol a meleg víz hatására a metszetek szétterültek a víz felszínén.

Az előre megjelölt üveg tárgylemezt a vízbe mártottuk, és ráosztattuk a metszeteket.

Festés. A preparátumok színezéséhez 0,05%-os toluidin kéket alkalmaztunk, amit a metszetre történő cseppentés után 5 perccel kétszer desztillált vízzel öblítettünk, míg már nem oldódott ki festékanyag a mintából. Festés és száradás után Histokitt-tel (Roti-Histokitt II, Carl Roth GmbH + Co. KG, Germany) fedtük a metszetet, amire fedőlemezt (18x18mm, Gerhard Menzel GmbH, Germany and 24x60mm, Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Germany) helyeztünk.

A fajtaleíráshoz a szőlővesszőket 2014. szeptember 28-án gyűjtöttük Cserszegtomajon a Pannon Egyetem Georgikon Tanüzem Kft. kísérleti szőlőtelepén. A vessző eredési helyéhez legközelebb eső, elfásodott, kb. 7 mm vastagságú alapanyagot a tőkék azonos helyéről, kétéves cserrésről választottuk ki. A metszeteket az internódiumok középső szakaszaiból készítettük.

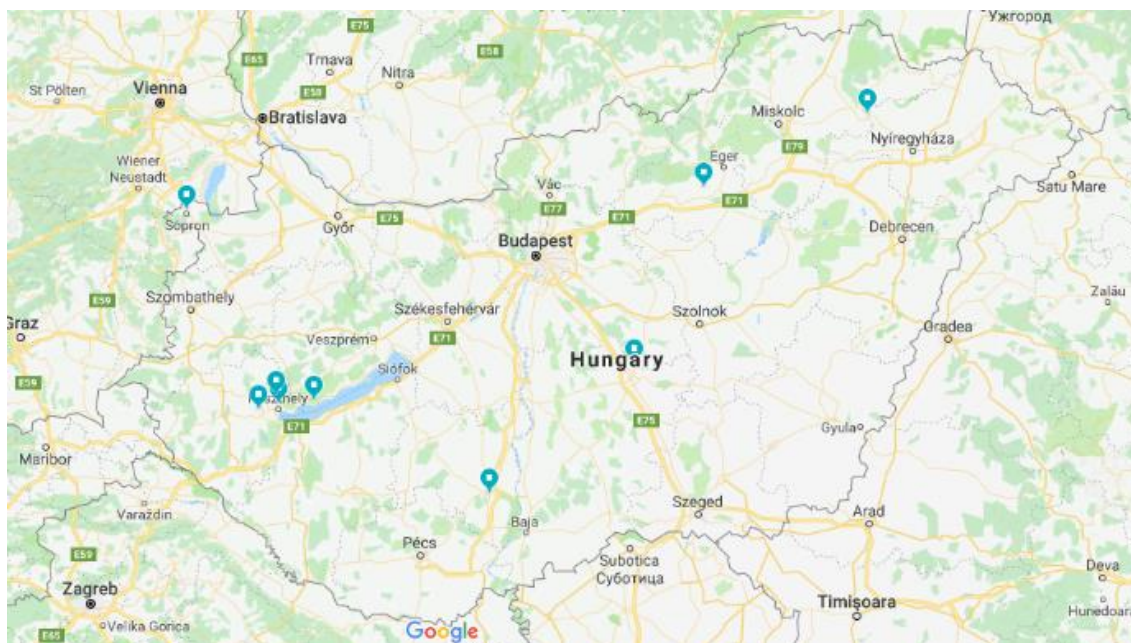
A szövettani megfigyeléskor az alábbi tulajdonságokat vettük figyelembe: 1) vessző keresztmetszetének alakja, 2) fa/bél arány, 3) floém/xylem+floém, 4) bélsugarak száma, 5) edénynyalábok tulajdonságai, 6) tracheák mérete, 7) tracheák mintázottsága, sűrűsége.

A szőlőfajták jellemzésekor alkalmazott fa/bél arány értékét a következőképpen számítottuk:

A mérést a keresztmetszetekről készített kinagyított fotókon végeztük el. A keresztmetszet átmérőit két egymásra merőleges vonallal vettük fel. Ezeket a vonalakat mérve feljegyeztük a fa és a bél értékeit, majd átlagoltuk. A farészt 1-nek számítva, megkaptuk a bél fához viszonyított értékét, tehát a fa/bél arányt. Miután ezek nem méreteket, hanem arányokat jelölnek, így nem rendeltünk hozzájuk mértékegységet.

4.2 A kórokozó vizsgálata

Botrytis cinerea izolátumokat 2015. őszén gyűjtöttük Magyarország különböző területeiről, illetve egy minta Franciaország Szavoja (Savoie, Chindrieux) borvidékéről származik (2. ábra)



2. ábra. A *Botrytis cinerea* izolátumok gyűjtésének helyszínei, amiket a térképen kék színű tűvel jelöltünk. Térkép forrása: Internet 2.

A begyűjtött mintákból monospórási telepeket hoztunk létre. A fertőzött fűtőkről desztillált vízzel szuszpenziót készítettünk, amiből egy-egy cseppet helyeztünk PDA (burgonya dextróz agar) táptalaj felszínére, majd 24-48 óra elteltével a fejlődésnek induló telepeket áttemeltük tiszta PDA-ra. A későbbiekben ezeket a kiindulási telepeket használtuk fel.

4.2.1 Telepmorfológiai vizsgálatok

A telepmorfológiai vizsgálatokat 5-ös ismétlésben, négy eltérő környezeti paraméter beállításával végeztük. A hőmérséklet hatását 5, 10 és 20 °C-on figyeltük. Emellett a telepeket 20 °C-on természetes fény mellett is megfigyeltük.

A telepátmérőt három időpontban mértük, emellett a sporulációt és a szklerócium képződést figyeltük meg.

A telepek növekedésének mértékét a petri csészéket fény felé tartva vonalzóval mértük, ahol két, egymásra merőleges átmérő adatot jegyeztünk fel, majd ezeket átlagoltuk. A sporulációt és szklerócium képződését két értékkel jeleztük, így az '1'-es szám jelezte a pozitív, a '0' pedig a negatív megfigyelést.

4.2.2 Mikroszatellit vizsgálatok

A mikroszatellit vizsgálatokhoz a kórokozó izolátumainak (3. melléklet) monospórák telepében képződött szkleróciumokat dolgoztuk fel, bár gyakorlatban (Abou-Zeid *et al.*, 2002; Váczy, 2009; Kumari *et al.*, 2014;) inkább a kórokozó légmicéliuma adja a DNS kivonás alapanyagát. A képleteket folyékony nitrogénnel fagyasztottuk és dörzsmozsárban porrá őröltük. A továbbiakban Qiagen Kit gyári protokollja szerint, 1.5-szeres mennyiségű (30 μ L) proteináz-K enzimmel dolgoztunk tovább.

PCR reakciókat végeztünk Fournier *et al.* (2002) által leírt mikroszatellit markerekkel, melyek közül a Bc1 (AF478349; F: AGGGAGGGTATGAGTGTGTA; R: TTGAGGAGGTGGAAGTTGTA) és a Bc3 (AF480438; F: GGATGAATCAGTTGTTTGTG; R:CACCTAGGTATTTCTGGTAA) marker adott értékelhető eredményeket, így ezeket elküldtük fragment analízisre. A kapott értékekből dendrogramot készítettünk (GenAlEx 6.5).

4.3 *Botrytis cinerea* elleni alternatív védekezési lehetőségek

4.3.1 UV-C hullámhosszúságú fény hatása

A kórokozó izolátumait 2013-ban fertőzött szőlőfűről gyűjtöttük Cserszegtomajon, a Pannon Egyetem Georgikon Tanüzemének kísérleti szőlőtelepén. A további munkához a fentebb leírtak szerint monospóras telepeket hoztunk létre burgonya dextróz agaron (PDA, Fluka).

4.3.1.1 A sugárzás hatása a gombatelepekre




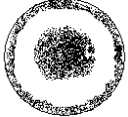








A vizsgálatokat három lépésben végeztük.

PDA táptalajt inokuláltunk *Botrytis cinerea* monospóras telepének konídiumaival. 7 nappal később, mikor a telepek már sporuláltak, elvégeztük a kezelést három ismétlésben. A besugárzást 253,7 nm hullámhosszúságú UV-C fényt kibocsájtó, 30 W névleges kimeneti teljesítményű izzóval végeztük Varga-Haszonits (1987), Nigro *et al.* (1998, 2000), valamint Nagy (2003) munkái alapján. A dózist a megvilágítás hosszának logaritmikus növelésével emeltük, így 1, 3, 10, 30 és 60 percig tartott egy-egy periódus. A petri csészék és az izzó közötti távolságot 20 cm-ben határoztuk meg.

A kiértékelést binokuláris mikroszkóppal (Nikon SMZ800) végeztük a besugárzás előtt, közvetlenül a besugárzás után, majd 7 nap elteltével.

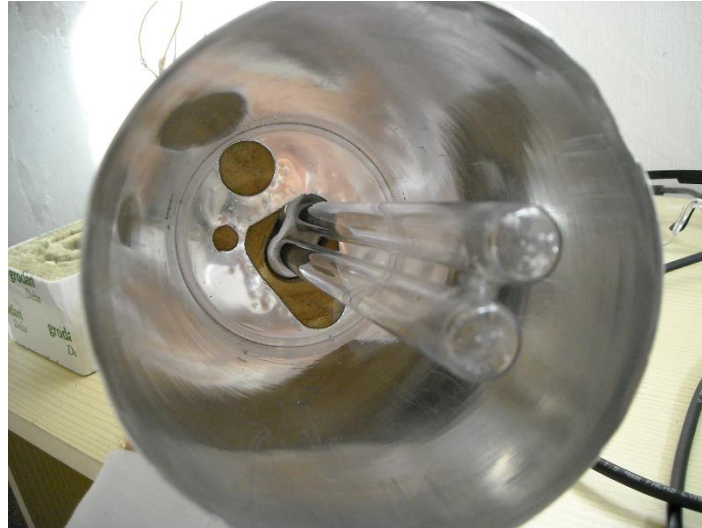
A fertőzöttség megállapításához a csészékben lévő telepeket és a vesszőket a 3. táblázatban látható Townsend és Heuberger-féle betegség-index kategóriákba soroltuk:

3. táblázat. Townsend és Heuberger-féle betegség-index kategóriák, ahol az egyes csoportokra jellemző százaléktételeket és a hozzájuk tartozó telep-borítottságot, valamint fertőzött vesszőfelületet ábrázoltuk.

	0	1	2	3	4	5
	nyomokban	5 % >	5-25 %	25-50 %	50-75 %	75-100 %
						
						

4.3.1.2 Szőlővesszők kezelése

A besugárással a csersegtomaji kísérleti szőlőtelepről származó fertőzött szőlővesszőket kezeltük 10 ismétlésben. A kétrügyes vessződarabok alsó rügyét kivakítottuk, majd a kezelést a fentebb leírt idősor szerint, egy külön erre a célra készített eszközben hajtottuk végre. Ehhez egy Petri csészék szállítására szolgáló alumíniumhengert használtunk, aminek az aljára kőzetgyapot kockát helyeztünk, ebbe állítottuk a vesszőket talpi végükkel lefelé. A henger fedelének belső oldalára erősítettük az izzó foglalatát, így a hengert lefedve egy zárt teret hoztunk létre. Az izzó a vesszők között helyezkedett el, a henger belseje pedig, anyag- és felületi tulajdonságainak köszönhetően visszatükrözte a fénysugarakat (3. ábra), ezzel pedig lehetővé vált a vesszők teljes felületének megvilágítása. A kezelés után a vesszőket izolátor fólia alatt elkülönítettük egymástól a további megfigyelés idejére.



3. ábra. A szőlővesszők UV kezelésére használt henger belső, tükröződő felülete.

A detektált értékekből a kezelés hatásának megállapításához hatékonysági százalékot számítottunk a kezelés előtt és után megállapított betegség-index kategóriák változása alapján az alábbi képlet felhasználásával:

$$H\% = (1 - F_{ku} / F_{ke}) \times 100, \text{ ahol}$$

H%: hatékonysági százalék

F_{ku} : Fertőzöttség kezelés után

F_{ke} : Fertőzöttség kezelés előtt

4.3.2 Növényi kivonatok hatása

Gyógynövény kivonatok kórokozóra gyakorolt hatását tanulmányoztuk.

Kórokozó. A *Botrytis cinerea* izolátumot a Pannon Egyetem Georgikon Tanüzem Nonprofit Kft. cerszegtomaji szőlőtelepén gyűjtöttük fertőzött szőlőbogyóról. A kísérletekhez a kórokozó 7 napos, burgonya dextróz agaron tartott monospóras tenyészeit használtuk fel.

Növényi anyagok. A gyógynövényfajok közül az első (ismétlések száma: 6) és második (ismétlések száma: 10) vizsgálatban a kerti kakukkfű (*Thymus vulgaris* L.), az orvosi zsálya (*Salvia officinalis* L.), a rozmaring (*Rosmarinus officinalis* L.), a citromfű (*Melissa officinalis* L.) és a borsos menta (*Mentha x piperita* L.) szerepelt. A második alkalommal a kakukkfüvet, a zsályát és a rozmaringot kombináltuk kettő-kettő, illetve mindhárom növény együttes alkalmazásával. A növények a Pannon Egyetem Georgikon Kar Kertészeti Tanszékének gyógy- és fűszernövény bemutatókertjéből származtak.

Kivonatok készítése. Az első és a második kísérleti szakaszban a porított növényi drogokból kivonatokat készítettünk desztillált víz és 96%-os etil-alkohol felhasználásával. Ehhez 7,5 g porított növényi anyagra öntöttünk 50-50 ml forrásban lévő vizet, illetve etil-alkoholt, majd 24 óra után a kivonatokat leszűrtük. A gyógynövények kombinált alkalmazásakor az alkoholos kivonatokat 1:1 arányban kevertük.

Az alkalmazott gyógynövényeket a 4. táblázat tartalmazza.

4. táblázat. A vizsgálatokban alkalmazott gyógynövények

	Gyógynövény, szer	Vizsg.1.	Vizsg.2.
1.	<i>Thymus vulgaris</i> L., Thymi herba	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
2.	<i>Salvia officinalis</i> L., Salviae folium	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
3.	<i>Rosmarinus officinalis</i> L., Rosmarini folium	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
4.	<i>Melissa officinalis</i> L., Melissa folium	<input checked="" type="checkbox"/>	-
5.	<i>Mentha x piperita</i> L., Menthae piperitae folium	<input checked="" type="checkbox"/>	-

Korongdiffúziós módszer. A korongdiffúziós módszer alkalmazásakor 90 mm-es műanyag Petri csészékbe 20 ml PDA táptalajt adagoltunk. Antibiotikum tesztkorongokat (d=9 mm, MN

827 ATD, Reanal) impregnáltunk a növényi kivonatokkal, amiket a megszilárdult táptalaj felszínére helyeztünk. A vizsgálatot 6 ismétlésben végeztük. Kontrollként desztillált vízzel, illetve 96%-os etil-alkohollal átitatott korongokat alkalmaztunk 3-as ismétlésben.

A tesztlapokra a *Botrytis cinerea* monospóras tenyészetekből kivágott, 5x5 mm-es, micéliummal átszőtt agardarabokat tettünk. A petri csészéket ezt követően parafilmmel lezártuk, és 12 órás megvilágítás mellett szobahőmérsékleten inkubáltuk. 24, 48, 72 és 115 óra elteltével a tenyészeteket ellenőriztük és feljegyeztük a kórokozó agardarabokból kiinduló telepeinek átmérőjét. Az így kapott értékekből inhibíciós, azaz gátlási százalékot (növekedés gátlás mértéket) (Abbott, 1925; Özcan és Boyraz, 2000; Haouala és mtsai, 2008) számítottunk az alábbi képlet alapján:

$I\% = (1 - dt/dc) * 100$, ahol

I% (inhibíciós, gátlási százalék): - a növényi kivonatokkal impregnált és nem impregnált korongokon fejlődő telepek egymáshoz viszonyított aránya; a növekedésgátlás mértéke

dc: kontroll korongon fejlődő telep átmérője (mm)

dt: növényi kivonattal kezelt korongon fejlődő telep átmérője (mm)

Mérgezett agarlemez módszer. A mérgezett agarlemez módszernél a még folyékony táptalajhoz kevertük a leszűrt növényi kivonatokat 10V/V% koncentrációban, majd petri csészékbe adagoltuk. Kontrollként desztillált vizet, illetve abszolút kontrollként tiszta PDA-t alkalmaztunk. A táptalaj megszilárdulása után, annak felületére – a korongdiffúziós módszerhez hasonló módon – a kórokozó tiszta tenyészetéből származó inokulumot helyeztünk, majd parafilmmel lezártuk a petri csészéket. A kiértékelést a 8. napon végeztük el, ekkor vonalzóval lemértük a gombatelepeket, és a két egymásra merőleges átmérő értékeit átlagoltuk.

4.4 Az adatok statisztikai értékelése

A statisztikai értékelést különböző módszerekkel végeztük, ezeket az 5. táblázatban foglaltuk össze.

A morfológiai megfigyelések adatait variancia-analízissel (ANOVA), a páronkénti összehasonlítást Tukey B-tesztel elemeztük, amihez SPSS 9.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL) statisztikai szoftvert használtunk.

Az anatómiai eltérések közötti kapcsolatot korreláció-analízissel mértük.

A *B. cinerea* izolátumok telepmorfológiai adataiból a hipotézisvizsgálatot Mann-Whitney teszttel végeztük, mert a telepméretetek nem voltak normális eloszlásúak.

A *B. cinerea* izolátumok mikroszatellit vizsgálatának adatait a GenAlEx 6.5 (Peakall és Smouse, 2012) programmal dolgoztuk fel. A genetikai távolságok ábrázolásához UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) dendrogramot készítettük, amihez a Mega 7.0 szoftvert alkalmaztuk.

A gyógynövénykivonatok hatásával kapcsolatban az adatok elemzésénél, amennyiben a varianciaanalízis normál eloszlás feltétele teljesült, egytényezős varianciaanalízist (one-way ANOVA) alkalmaztunk (Sahai és Ageel, 2000), a normális eloszlás feltételét nem teljesítő kivonatok esetében pedig nemparaméteres eljárást (Mann-Whitney tesztet) használtunk (Sprenst és Smeeton, 2000) páronkénti összehasonlításban, tehát adott kivonat eredményeit minden más kivonat eredményével összevetve. Az egytényezős varianciaanalízist tekintve egyetlen alkalmazás esetében sem volt bizonyított a kivonatok gátlási százalék értékeinek szórás egyezése, így az átlagértékeket a Games-Howell-féle Post Hoc teszttel hasonlítottuk össze. Az adatok elemzését SPSS programmal végeztük el.

A telepméretetek eltérő szórása esetén a Welch-féle ANOVA-t használtuk. A páronkénti összehasonlítást Games-Howell teszttel végeztük. Az értékelést ez esetben is az R statisztikai szoftverrel (R Core Team, 2017) végeztük.

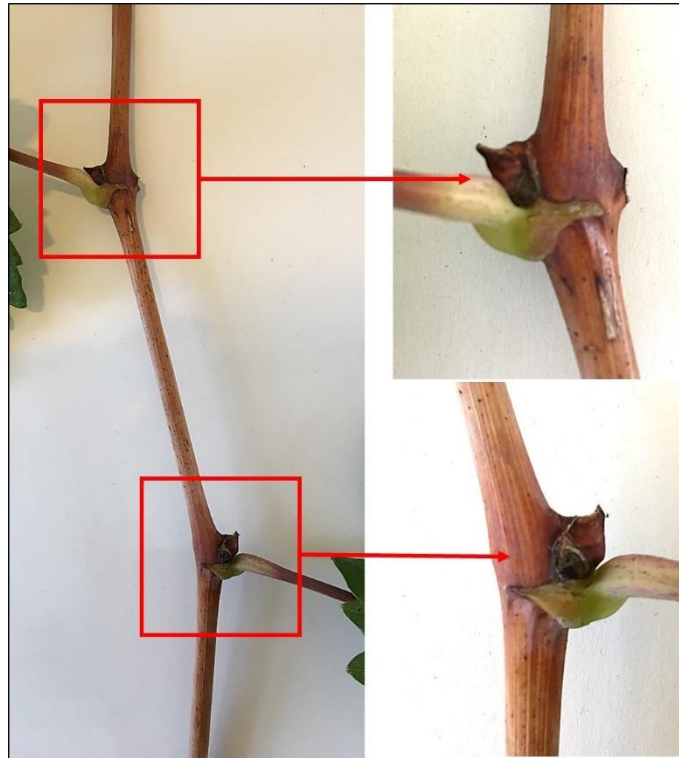
5. táblázat. Az alkalmazott statisztikai módszerek

		Normalitás előfeltétele	
		Teljesült	Nem teljesült
Azonos szórás	Teljesült	Egytényezős varianciaanalízis (Post Hoc: Tukey B-teszt)	Nem paraméteres próba (Mann-Whitney teszt)
	Nem teljesült	Egytényezős varianciaanalízis - Welch-féle (Post Hoc: Games-Howell -teszt)	

5 EREDMÉNYEK

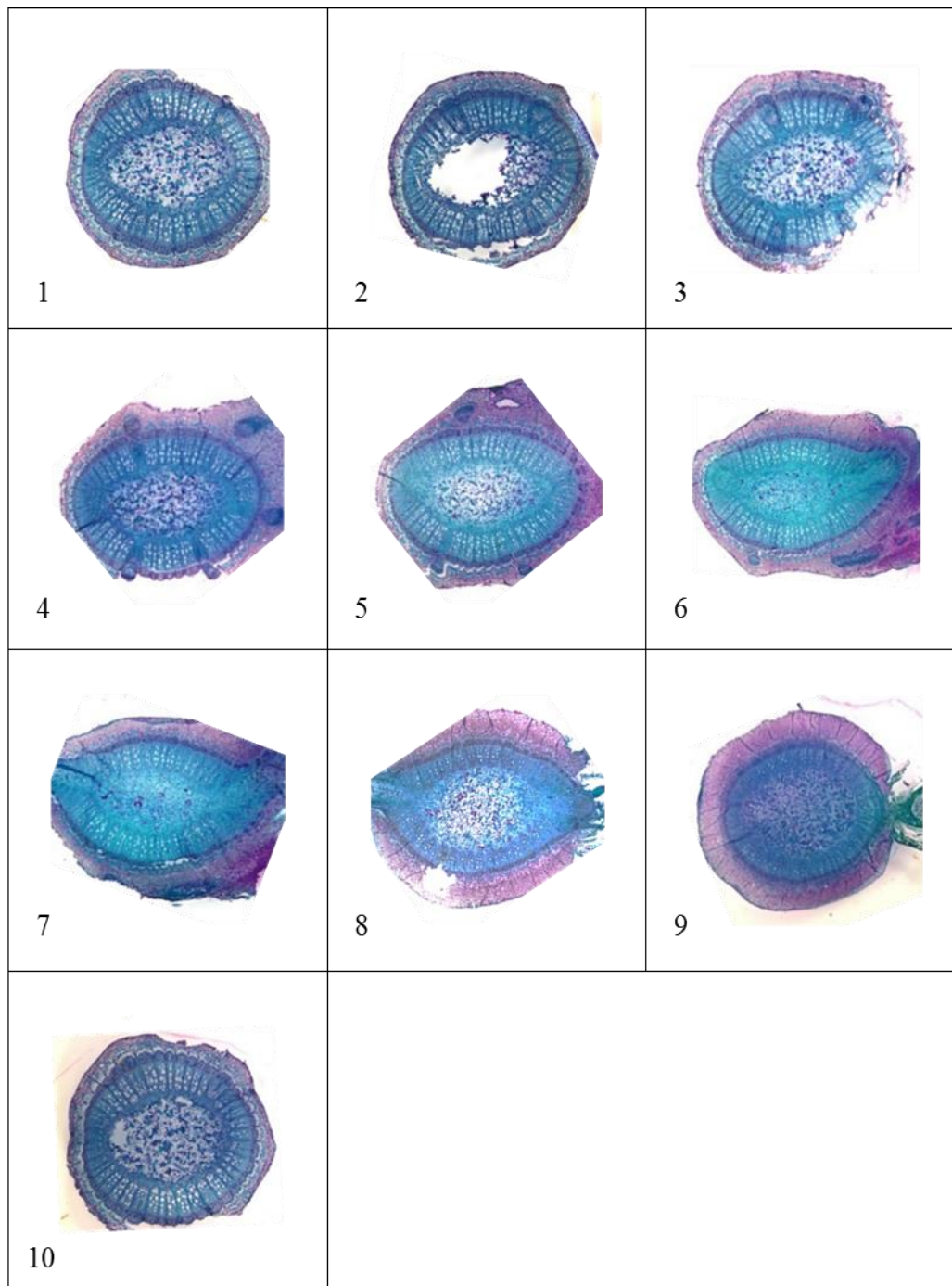
5.1 Szőlővessző felépítése

Szőlővessző oldalai. Az apró, de mégis jelentőséggel bíró morfológiai eltéréseket egy vesszőn kívülről nehéz megfigyelni (4. ábra).



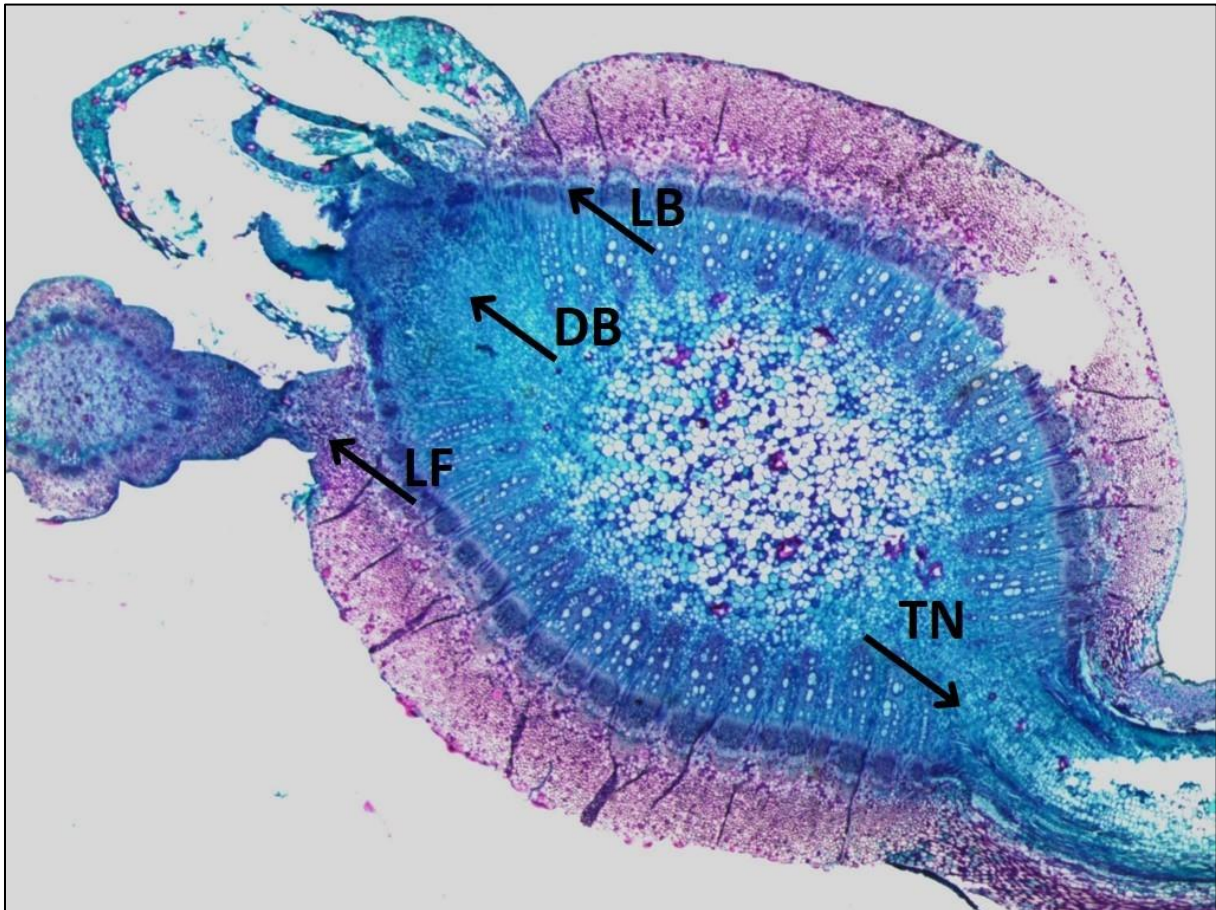
4. ábra. A szőlővessző felépítése rügyekkel és levelekkel. A morfológiai jellemzők kívülről nem láthatók, csupán a téli rügy alternáló megjelenése szembetűnő.

Ha megnézünk egy ilyen vesszőt a téli rügy irányából, az ellentétes oldalon helyezkedik el a kacs oldal, amennyiben kifejlődött. Ha a hónaljajtás oldal a téli rügy jobb oldalán található, a levéloldal annak bal oldalán helyezkedik el. Pongrácz (1978) megállapításait megfigyeléseink is alátámasztották, miszerint a vesszők aszimmetrikusak, illetve a vesszők keresztmetszetén belül az egyes oldalak szöveti felépítése eltérő (5. ábra).



5. ábra. A szőlővessző oldalainak változása a keresztmetszetek fotóin ábrázolva. 1: nódusz alatti réteg; 2-9: a nódusz rétegei alulról felfelé haladva; 10: nódusz feletti réteg (metszetek és fotók: Farkas, 2014, 2019) A szőlővessző oldalai nóduszonként alternálnak, az eltérő oldalaknál a szövetek vastagsága a keresztmetszeten belül változó.

A vékonyabb élő szövettel rendelkező oldalakhoz csatlakozik a kacs és a téli rügy, a levél és a hónaljajtás rügyének pozíciója pedig nóduszonként változik, így a hónaljajtás a téli rügy bal oldalán, míg a levél annak jobb oldalán helyezkedik el (6. ábra).



6. ábra. A szőlővessző nóduszának keresztmetszeti képe az oldalszervekkel. A kacs (tendrill, TN) oldalával szemközti oldalon fejlődik a téli rügy (dormant bud, DB), melynek – szemből nézve – bal oldalán a hónaljajtás kezdeménye (lateral bud, LB), míg jobb oldalán a levél (leaf, LF) található.

Az egyes oldalak alternáló váltakozása folytán a levél a vesszőnek mindig azonos oldalán, a hasi oldalon, elnevezésünk szerint a levél oldalon helyezkedik el. A nyugalomban lévő vessző keresztmetszetének formája fajtánként eltérő, az lehet kör, ovális vagy lapított, de esetenként sokszög, vagy szögletes alakú.

A kalluszfejlődést befolyásoló szöveti jellemzők az alanyfajták szerint jelentős mértékben eltértek (1. melléklet). A fa/bél arány és az élő kéreg/fás szövet arányszáma egymással összefüggésre nem utal. Mindkettőt kapcsolatba hozzák a kalluszfejlődés intenzitásával.

Schenk (1976) osztályozását követve az egyes alanyfajták szőlővessző oldalain eltérő kalluszfajldódst tapasztalhatunk, kivéve a B × R 161-49 és a *Vitis Rupestris* Forthworth fajtákat, melyek esetében ez teljesen kiegyenlített. A legintenzívebb kalluszfajldódsra az Alháros fajtánál számíthatunk. Általánosságban gyengébb kalluszfajldódst várhatunk a kacs és téli rügy oldalon.

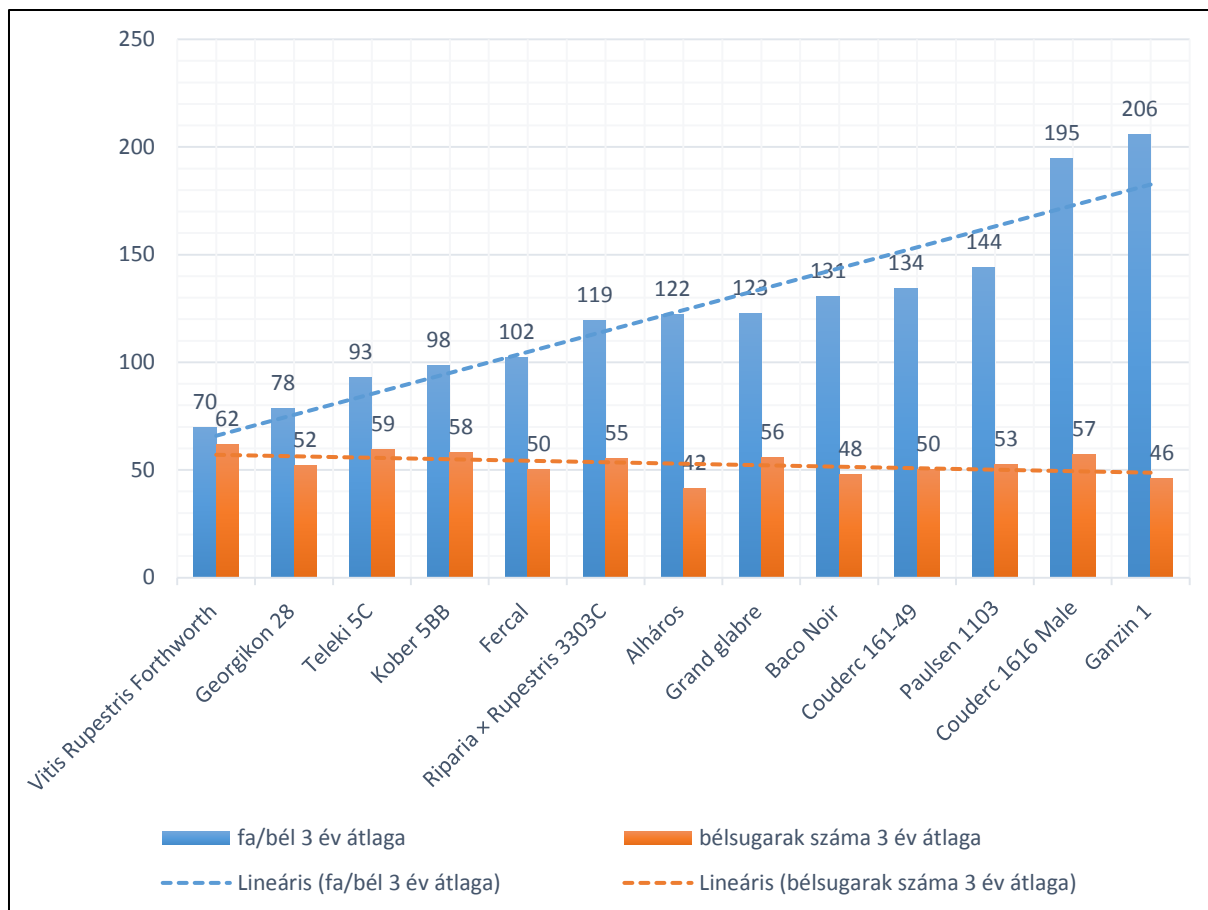
Leírást készítettünk 15 alany- és 5 nemes fajtáról (4. melléklet). Referenciaként az alanyok közül a Teleki 5C-t, nemesek közül pedig a Pinot noir fajtát választottuk, melyek viszonyításul szolgálnak az egyes tulajdonságok értékeléséhez. Az egyes fajtáknál a farész mintázottsága, ezen belül a tracheák elhelyezkedése, a bélsugarak sűrűsége, a vessző keresztmetszeti formája eltérő. A leírásban szereplő trachea méretek azok átmérőjére vonatkoznak.

A jellemzés tartalmazza a fajta nevét és származását, a bélsugarak számát, a fa-bél arányt, a vessző alaki leírását, a xylem jellegzetességeit, ezen belül a tracheák méretét, elhelyezkedési mintázatát, sűrűségét, valamint az egyes nyalábok szembetűnő tulajdonságait.

Az egyes fajták jellemzésénél észlelt eltéréseket, különösen a fa-bél arányt és a bélsugarak számát tekintve látható, hogy ezek a tulajdonságok egymással összehasonlítva eltéréseket mutatnak. Ha a fa-bél arányt vesszük kiindulási szempontnak, akkor az egyes értékeket sorrendbe állítva a bélsugarak számához viszonyítva fordított arány jelenik meg, ami az ettől kismértékben eltérő 'Georgikon 28', 'Fercal', 'Alháros' és 'Couderc 1616 Male' fajták figyelembe vételével is az esetek 69 %-ában megállapítható (7. ábra).

A korrelációs együtthatót kiszámolva is megállapítható (5. melléklet), hogy a bélsugarak száma a farész növekedésének arányában csökken.

Hangsúlyoznunk kell, hogy a méréseket vizuális megfigyelés alapján végeztük, így a lehetséges emberi tévedésnek, keresztmetszeti tulajdonságoknak és a szöveti kialakulás folyamatainak köszönhetően a mért adatoknál tendenciát emelünk ki, nem a pontos számokat. Egy növény fajldódsra számos tényező függvénye, így egy adott fajtánál két eltérő termőhelyen is különböző jellegzetességek alakulhatnak ki.

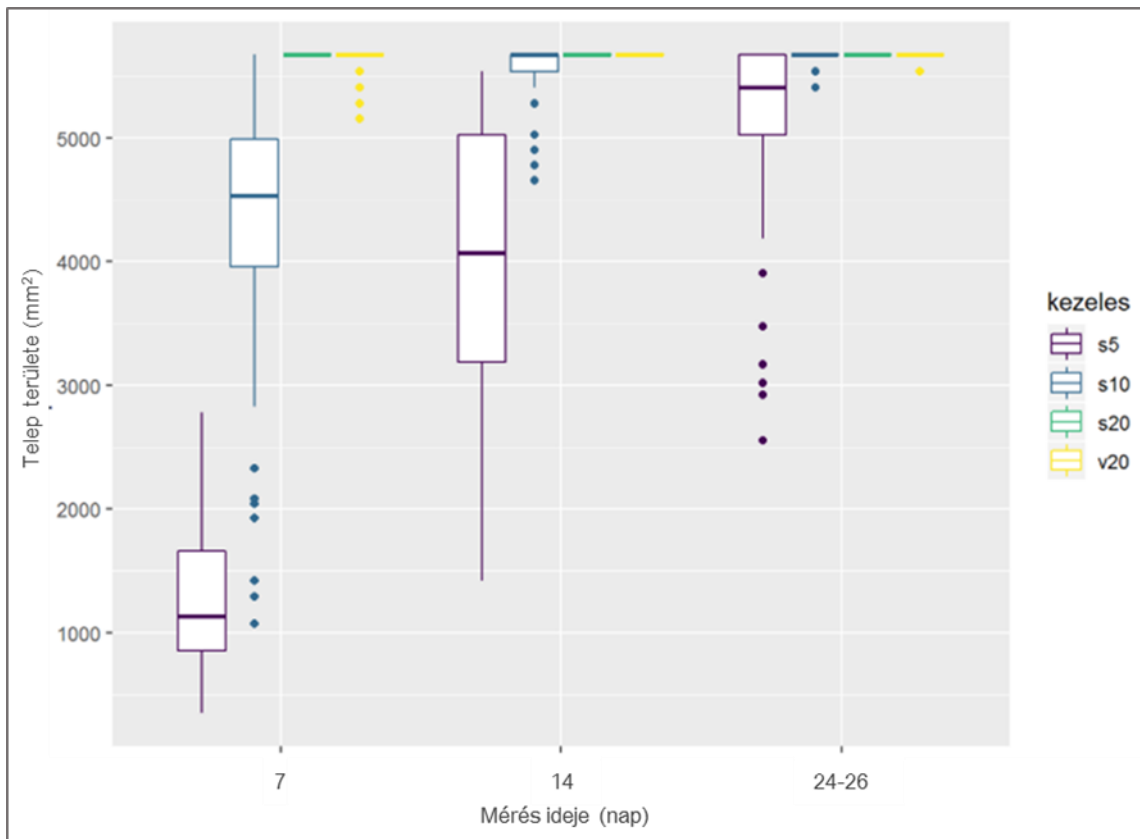


7. ábra. A fajták fa-bél arányának és a bélsugarak számának viszonya 3 év átlagában (2013, 2014, 2016)

5.2 *Botrytis cinerea* telepmorfológiai vizsgálatok eredménye

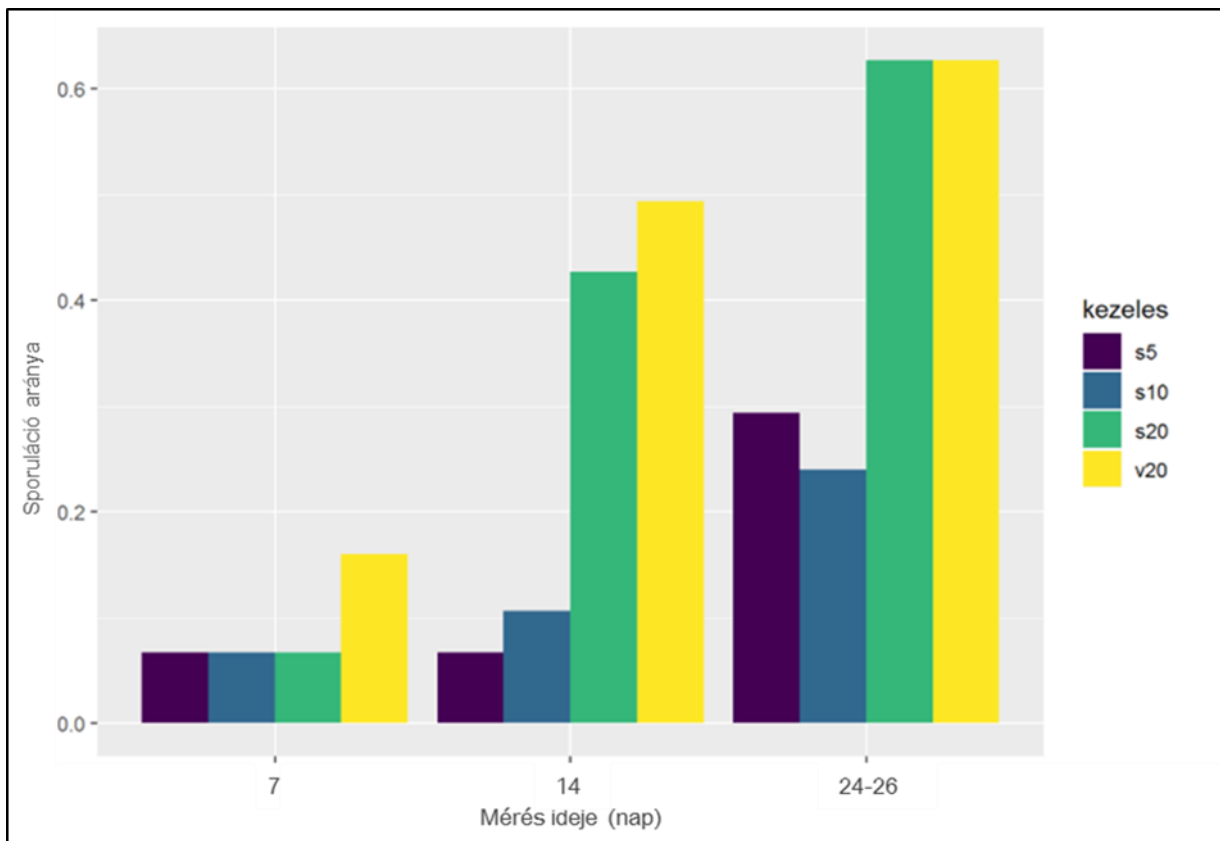
A kórokozó telepmorfológiai jellemzőit a 6. mellékletben szereplő fotók szemléltetik. Az eltérő fejlődési és reprodukálódási tulajdonságokról az alábbiakban adunk leírást.

Növekedés. Kezelésenként és a mérés ideje szerint a gombatelepek fejlődésében jelentős eltérés mutatkozott (8. ábra). A hőmérséklet hatása már az első felvételezés időpontjában is szembetűnő volt. A 20 °C-os sötét (s) és világos (v) kezelés esetén is a gomba már az inkubációs idő első 7 napjában benőtte a petri csészékben rendelkezésre álló felületet. A második és harmadik méréskor gyakorlatilag csak az 's5' kezelés telepeinek növekedése maradt el a többitől. Feltételezésünket a grafikon is alátámasztotta, és statisztikailag is igazolható volt, hogy minél magasabb a hőmérséklet, annál gyorsabban fejlődnek a telepek.



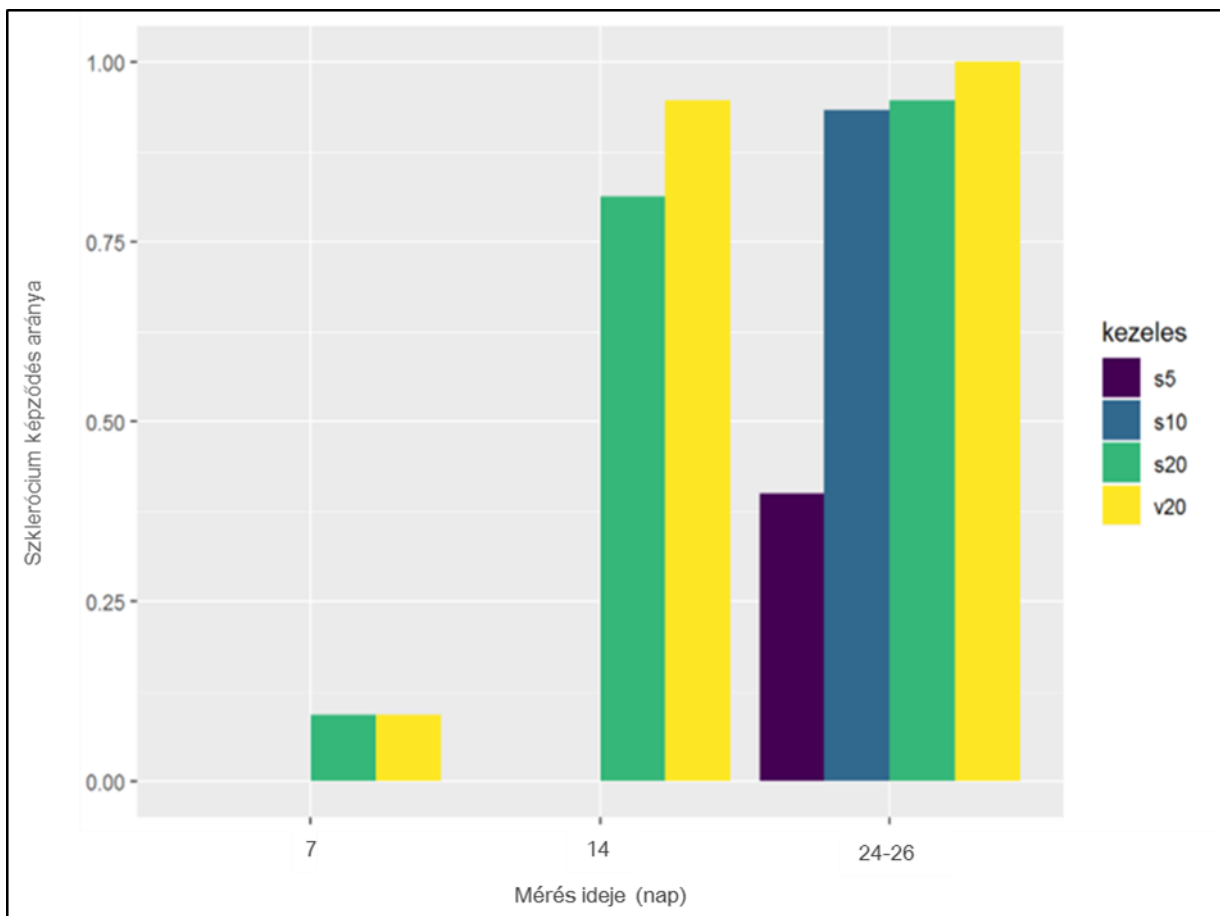
8. ábra. *B. cinerea* telepek fejlődése eltérő megvilágítási és hőmérsékleti viszonyok között 3 mérési időpontban. Magyarázat: s5: 5°C sötét; s10: 10 °C sötét; s20: 20 °C sötét; v20: 20°C világos.

Sporuláció. A környezeti körülmények és a sporuláció összefüggéseit a 9. ábrán mutatjuk be. A 'v20' kezelés esetén volt a legmagasabb a sporuláció aránya az első felvételezés időpontjában. Az idő előrehaladtával a 'v20' és az 's20' kezelések között a különbség csökkent, majd a harmadik felvételezés idejére kiegyenlített, mikor 60% fölött volt a sporuláció aránya. Az 's5' és 's10' kezelés esetében a telepek spóráképzése jóval kisebb mértékű volt. Az 5 és 10 °C-on tartott petri csészékben csupán a 3. felvételezés idejére volt számottevő, ami a 24-26 napos növekedési időszak alatt a 29, illetve 24 %-ot érte el, tehát az 5 °C-on tartott csészékben a sporuláció mértéke meghaladta a 10 °C-os telepek spóráképzési jellemzőit. Az alacsonyabb hőmérsékleten az első 14 napban csupán egy izolátum mutatott teljes sporulációt, ez a minta azonban az összes környezeti feltétel között hasonló tulajdonságokkal bírt.



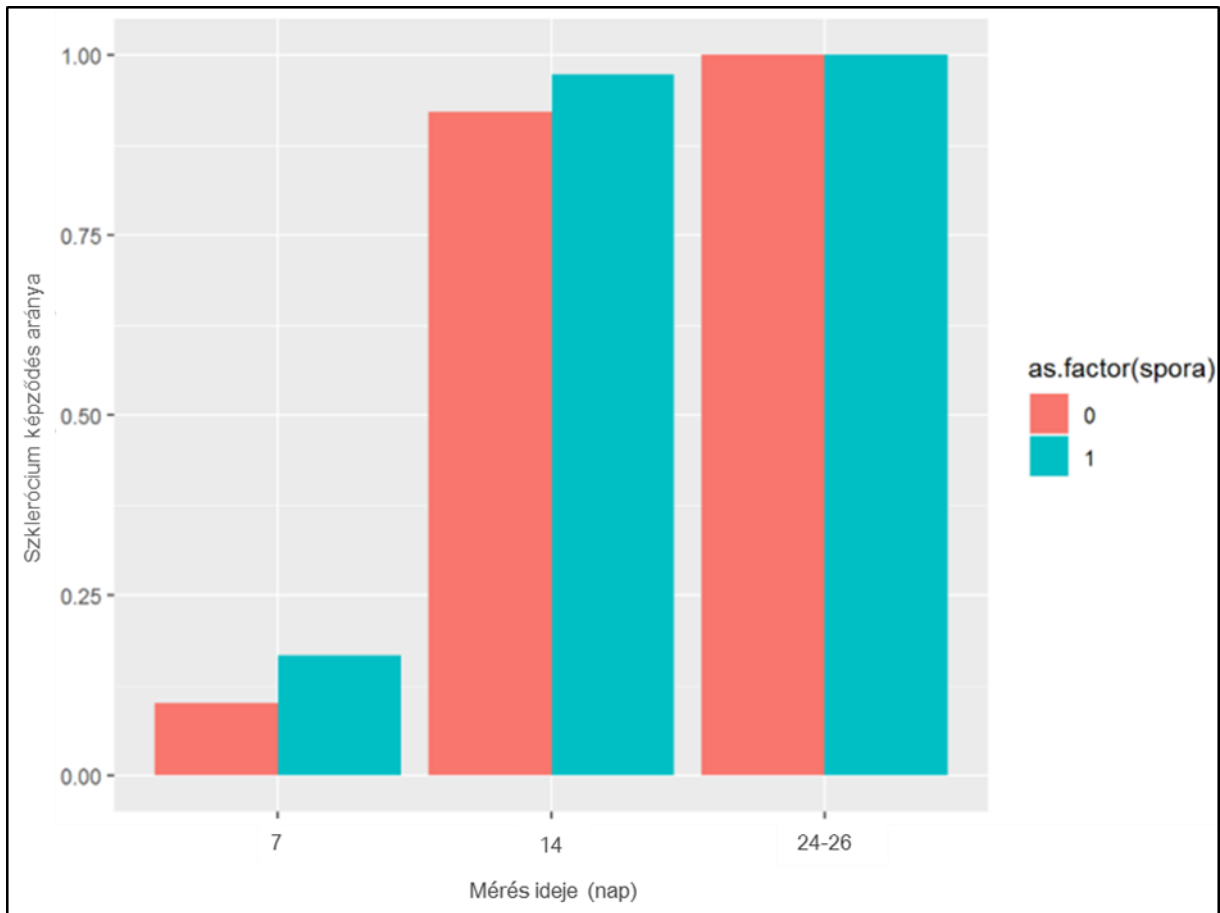
9. ábra. A *B. cinerea* telepek spóráképzési jellemzői a 24-26 napos inkubációs idő alatt. A sporuláció arányát a sporuláló (1) és nem sporuláló (0) csészék összesítésével és számtani átlagával számítottuk ki.

Szkleróciium képződés. Az eltérő környezeti feltételek eltérő szkleróciiumképzési jellemzőket eredményeztek (10. ábra). A 20°C-os hőmérséklet a fényviszonyoktól függetlenül már az első felvételezés idején is a telepek 10%-ában segítette az áttelelő képletek kialakulását, melynek mértéke a következő értékelés idejére sötétben már meghaladta a 80%-ot, világosban pedig a 90%-ot. Az 5 és 10 °C-os kezelésnél a 3. mérés idejében kezdődött el a szkleróciium képződése, az s5 kezelés hatására a kitartó képlet képződésének aránya 40% alatt maradt a 24-26 napos inkubációs időszak alatt. Áttelelő képletek legnagyobb mértékben (100%) a v20-as kezelésnél képződtek.



10. ábra. A szkleróciiumképződés jellemzői a környezeti feltételek függvényében. A szkleróciium képződés arányát a képletet fejlesztő (1) és nem fejlesztő (0) csészék összesítésével és számtani átlagával számítottuk ki.

A 11. ábrán a szklerócium képzés mértéke és a sporuláció közötti összefüggés látható. Az 1. és 2. felvételezés idején a konídiumok képződése nagyobb arányban volt megfigyelhető a szkleróciumot is képző telepeknél (kék oszlop), mint azokban a petri csészékben, ahol áttelelő képlet kisebb arányban fejlődött (piros oszlop). A harmadik felvételezés idejére ez a különbség kiegyenlítődött, ez viszont adódhatott a petri csészék méretéből is, mert a második felvételezés után a telepek már gyorsan elérték a petri csészék oldalfalát, így a gombatelepek viselkedését egy újabb tényező is befolyásolta.



11. ábra. A szkleróciumképzés mértéke és a sporuláció közötti összefüggés.

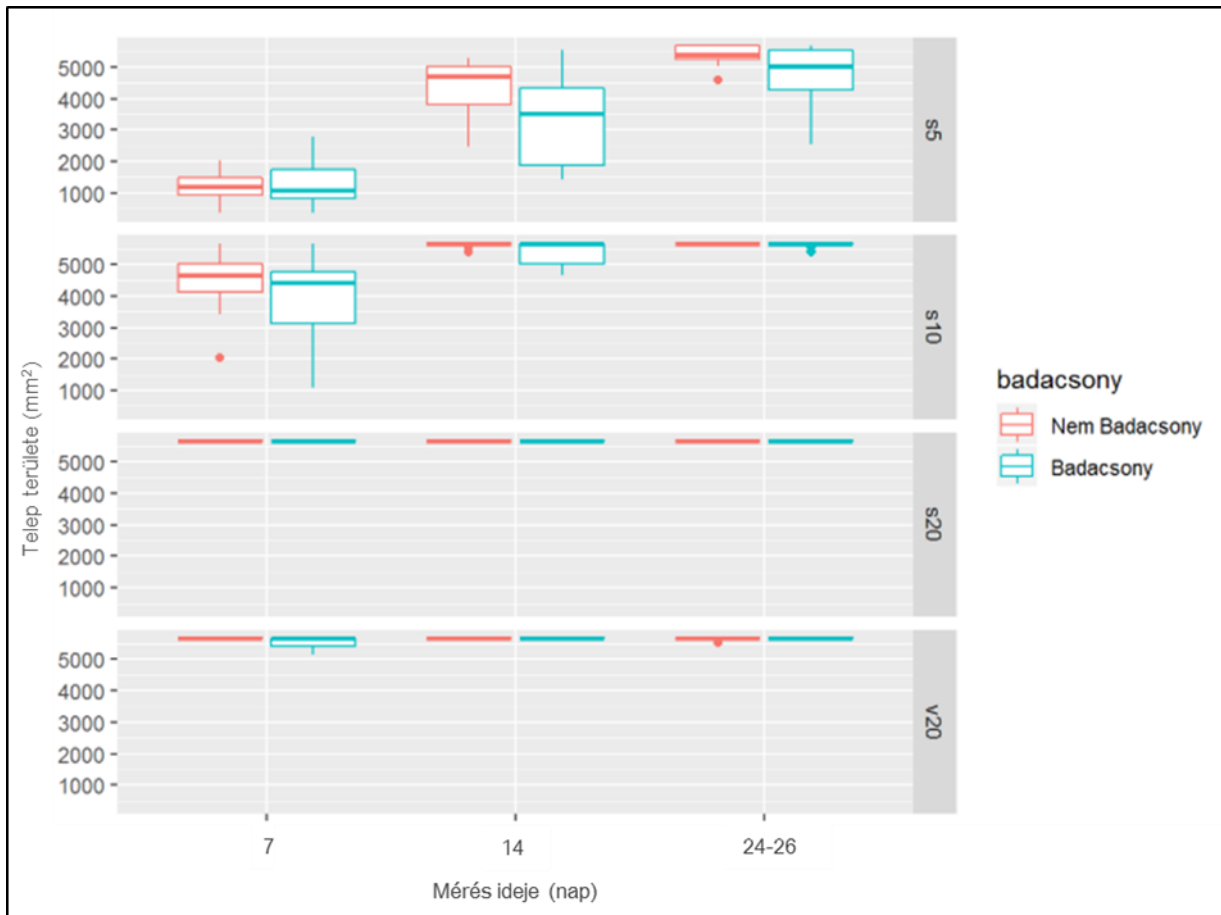
A 12. ábra az egyes kezelések és a telepfejlődés kapcsolatát szemlélteti, összehasonlítva az izolátumok (a kísérlet szempontjából) földrajzilag elkülönített két csoportját. Az s5 kezelésnél látható, hogy az első felvételezéskor a badacsonyi minták fejlődési értékei nagyobb szórást mutattak, mint a többi minta, a medián azonban alacsonyabb volt a badacsonyi minták esetében. A 14 napos telepeknél már szignifikáns különbség mutatkozott ($p=0.002$) a badacsonyi és a nem badacsonyi telepek növekedése között a legalacsonyabb hőmérsékleten. Az utolsó felvételezéskor a különbség csökkent a két csoport között, de a badacsonyi izolátumok ekkor is szignifikánsan ($p= 0.0085$) alacsonyabb fejlődési intenzitást mutattak, emellett a szórás – hasonlóan az első kiértékelési időponthoz – nagyobb volt, mint a nem badacsonyi minták esetében. A telepek egyik földrajzilag elkülönített csoportban sem töltötték ki a rendelkezésükre álló helyet a petri csészékben.

A 10°C-os kezelés hatására az első felvételezés időpontjában a badacsonyi minták nagyobb szórást és alacsonyabb medián értéket mutattak, mint a másik csoport. Az 5°C-os kezeléssel összehasonlítva látszik, hogy a telepek mérete magasabb hőmérsékleten már 7 nap után eléri, vagy meghaladja az alacsonyabb hőmérsékleten 14 nap után mért értékeket.

A 2. felvételezési időpontban 10°C-on a nem badacsonyi minták egy csésze kivételével elérték a lehetséges maximális méretet, míg a badacsonyi mintáknál a medián elérte a maximumot, a szórás szempontjából még mutatkozott különbség, a telepek átlagos mérete a Badacsonyból származó minták esetében kisebb volt, gyengén szignifikáns különbség ($p=0.0445$) volt a két vizsgált csoport között. Az utolsó felvételezéskor a telepek kitöltötték a petri csészék mérete szabta határokat egy badacsonyi minta kivételével.

Az s20 kezelés eredményeként a telepek a 7. napra elérték a lehetséges maximális méretet a petri csészékben.

A v20 kezelés hatására az első felvételezéskor a badacsonyi minták fejlődése kis mértékben, lemaradt a másik csoport növekedésétől, viszont ez az eltérés a későbbiekben kiegyenlítődt.



12. ábra. A kezelések és a telepfejlődés kapcsolata a badacsonyi és nem badacsonyi minták esetében. A két csoport a környezeti körülményekre eltérően reagált.

5.3 Mikroszatellit vizsgálatok eredménye

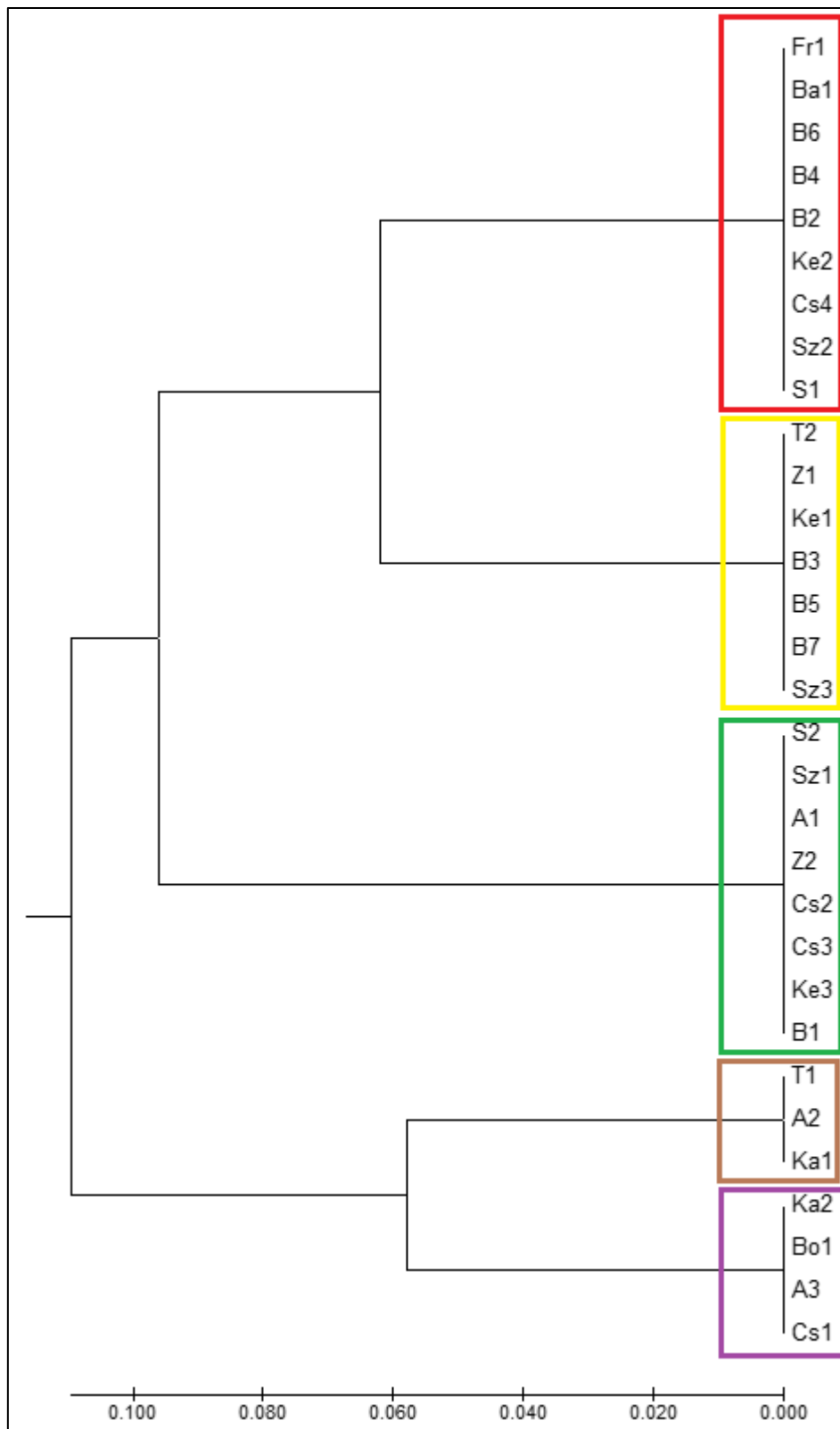
A Bc1 és Bc3 markerek adatainak (7. melléklet) feldolgozása alapján a begyűjtött izolátumokat 5 csoportba tudtuk sorolni. Az egyes csoportokba tartozó minták a mikroszatellit vizsgálat eredményei alapján szoros rokonsági kapcsolatban állnak egymással (13. ábra). A badacsonyi B2, B4, B5 minták a pirossal jelölt, míg a B3, B5, B7 minták a sárga színnel jelölt csoportba tartoznak. Jól látható, hogy a B1 minta jól elkülönül a többi badacsonyi izolátumtól, így feltehetően ez egy más alcsoportja a többi badacsonyi izolátumból származó *Botrytis*-nek.

A zölddel bekeretezett csoportban látható, hogy két cseszegtomaji (Cs2, Cs3) és egy keszthelyi minta (K3) is egy csoportban helyezkedik el, így ezeknek az izolátumoknak a dendrogramon való elhelyezkedése is jól tükrözi, hogy a közeli helyszínekről származó izolátumok közeli rokonságba tartoznak.

Az Fr1 minta mindegyik izolátummal közeli rokonsági kapcsolatban áll, bár földrajzilag nagyon távol eső helyről került begyűjtésre.

A többi izolátum rokonsági kapcsolatának szétszórt elhelyezkedéséről elmondható, hogy a *Botrytis cinerea* fajkomplex a szakirodalomban található (Hennebert és Groves, 1963, Fournier *et al.*, 2005; Walker *et al.*, 2011) megállapításokkal összhangban a könnyű terjedés, a gazdanövények nagy száma és nagyfokú rezilienciája miatt gyakorlatilag bárhová képes eljutni és bárhol el tud szaporodni, nagyon jó adaptációs képességekkel rendelkezik az eltérő klimatikus viszonyokat tekintve.

A közelebbi vagy távolabbi rokonsági kapcsolat nem befolyásolja az egyazon termőhelyen történő ivartalan szaporodási forma megjelenését.



13. ábra. A *B. cinerea* izolátumok közötti, mikroszatellit vizsgálat alapján ábrázolt rokonsági kapcsolat GenAlEx 6.5 programmal összeállított dendrogramon.

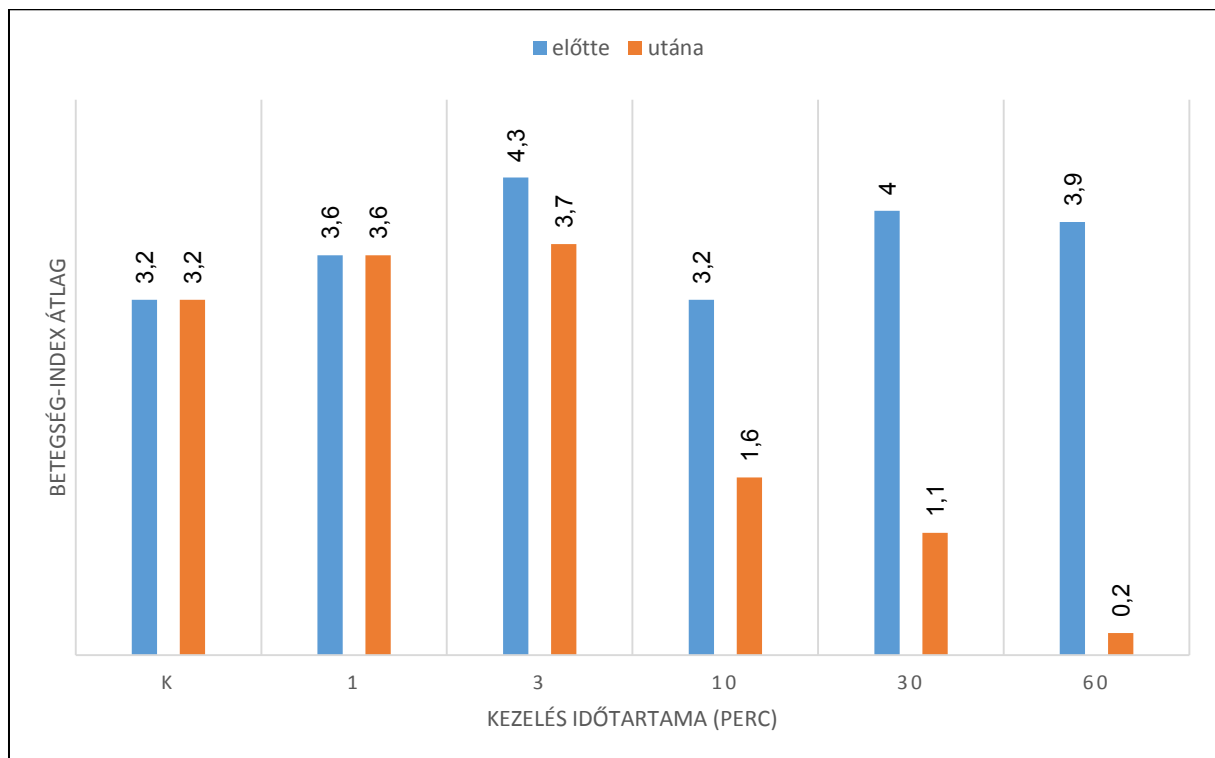
5.4 Alternatív védekezési lehetőségek

5.4.1 UV-C sugárzás hatása

Az UV-C fény *Botrytis cinerea* telepekre gyakorolt hatását az 14. ábrán mutatjuk be.

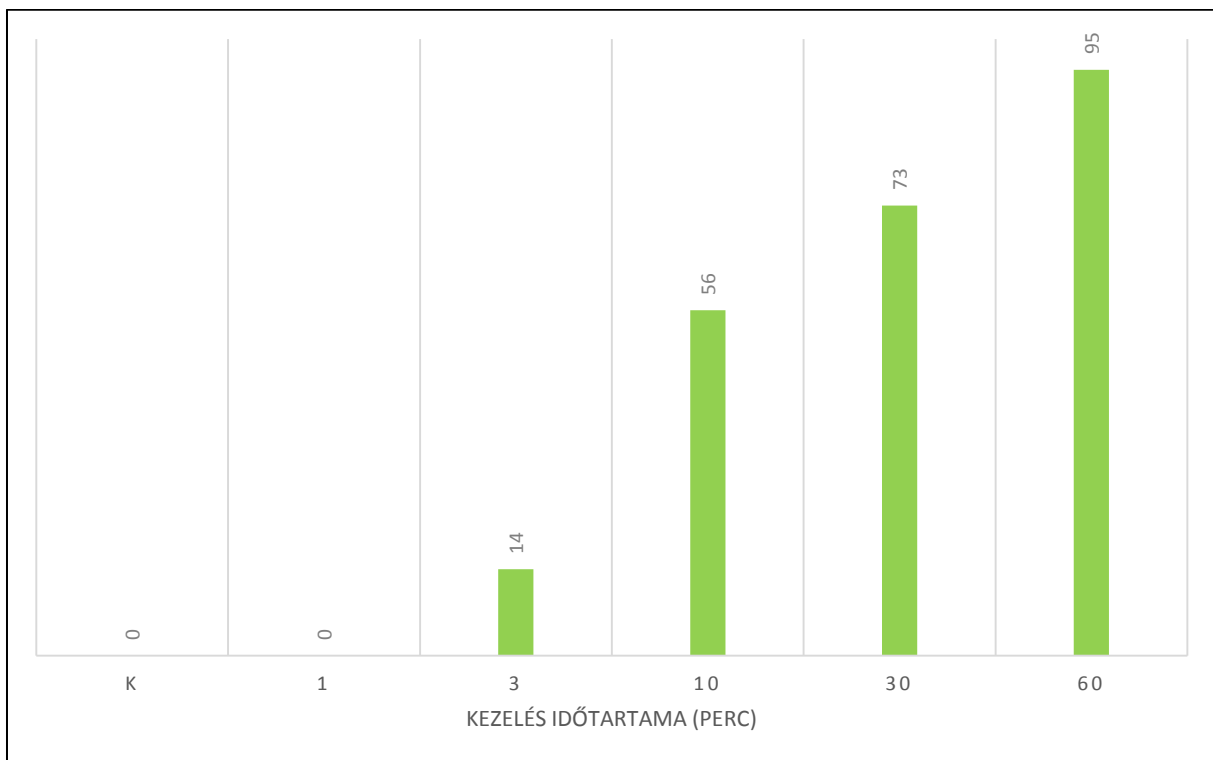
A kék színnel jelölt oszlopok a megvilágítás előtti, a narancsszínű oszlopok a megvilágítás után 7 nappal megállapított betegség-index értékeit jelölik.

A kontroll kezeléshez viszonyítva mindegyik petri csészében magasabb betegség-index kategóriákat találtunk. A kezeléseket után az 1 perces besugárzás még azonos értéket mutatott, viszont a 3 percig tartó megvilágítás már csökkentette a telep méretét átlagban 0,6 index-értékkel. A 10 percig tartó besugárzás hatására a telepek a kontrollhoz és a kezelés előtti állapothoz viszonyítva is jelentős méretcsökkenést mutattak, és ennél is erősebb hatást mértünk a 30, illetve 60 perces megvilágítás után is.



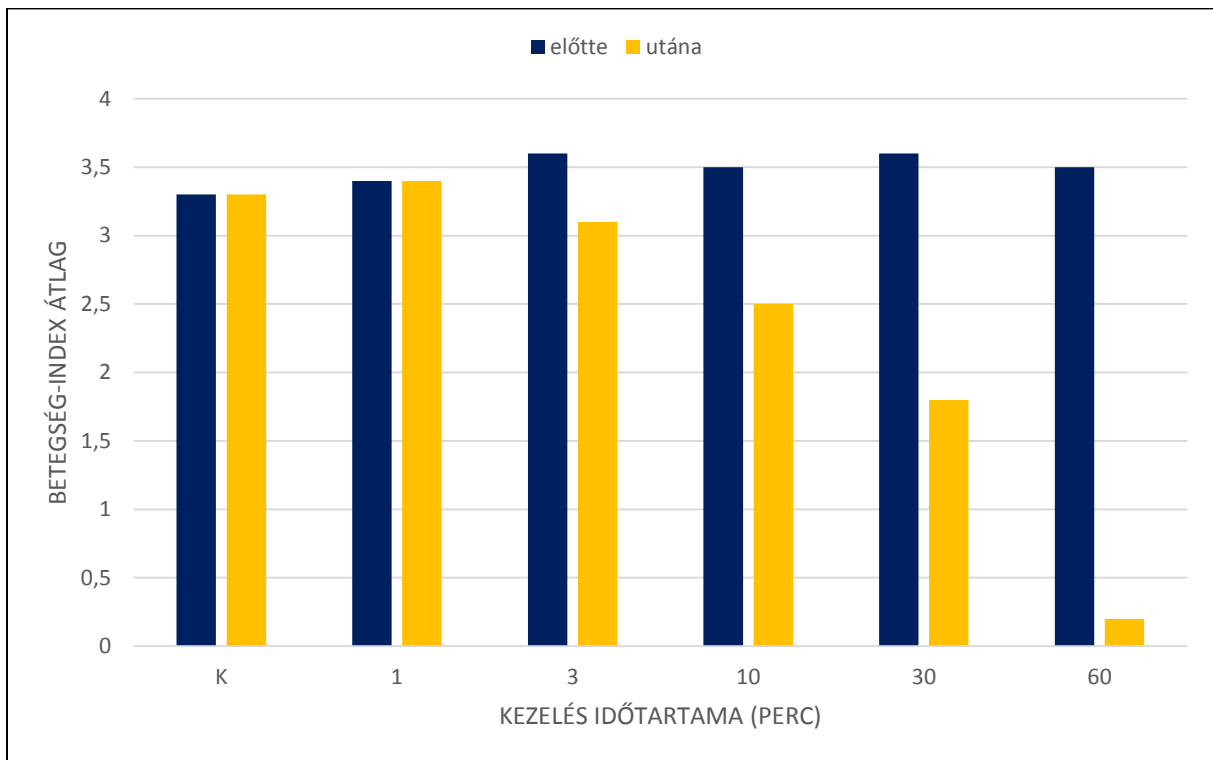
14. ábra. Az UV-C kezelés hatása a *B. cinerea* telepek fejlődésére. A kék oszlop a megvilágítás előtti, a narancsszínű oszlop pedig a kezelés utáni betegség-index értékek átlagát mutatja.

A betegség-index értékekből hatékonysági százalékot számoltunk - az előzőekben már ismertetett képlet alapján, ami az UV-C kezelés effektív hatékonyságát mutatja. Az értékek a 15. ábrán láthatók. A kontroll kezeléshez hasonlóan az 1 percig tartó megvilágítás 0% hatékonyságot mutatott. Csekély mértékű, 14%-os hatékonyságot mértünk a 3 perces besugárzás hatására. A 10 perces megvilágítástól kezdve már jelentős hatékonyságot tapasztaltunk. Az 56%-os érték 73-ra nőtt 30 perces kezelés után, míg 95%-ra emelkedett a 60 perces megvilágítás hatására.



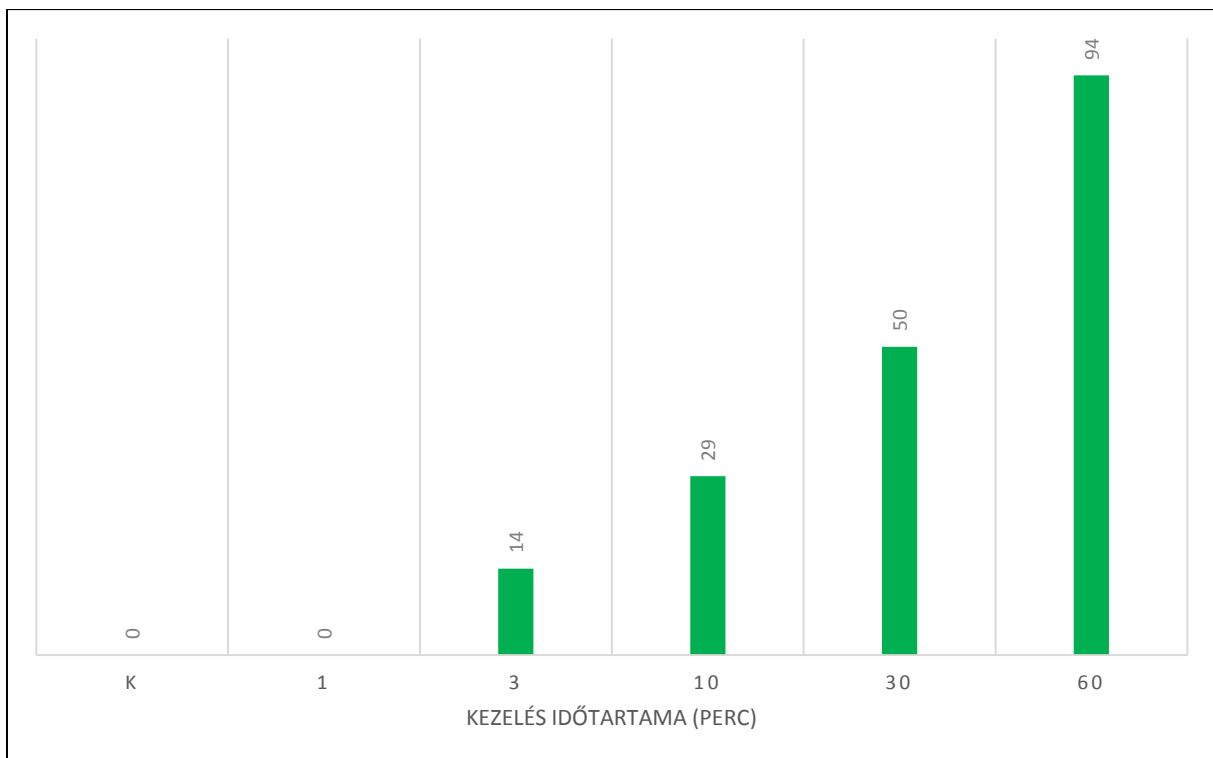
15. ábra. Az UV-C kezelés hatékonysági százalék értékei a logaritmikusan emelkedő időtartamoknak megfelelően. A kezelés időtartamának növelésével annak hatása is erősebb volt.

A szőlővesszők kezelésének eredményei Az 16. ábrán láthatók. A kontroll kezelés, és az 1 percen át tartó megvilágítás hatására a gombatelepek mérete nem csökkent. A következő, 3 percig tartó kezeléstől kezdve már csökkenést tapasztaltunk a petri csészés vizsgálat eredményeihez hasonlóan. A vesszők esetében is a 60 percig tartó megvilágítás okozta a legnagyobb mértékű telepméret-csökkenést.



16. ábra. Az UV-C megvilágítás hatása a szőlővesszők fertőzöttségére. A kék oszlop a megvilágítás előtt, a sárga oszlop a kezelés utáni betegség-index átlagos értékeit mutatja.

A szőlővesszők betegség-index értékeiből számolt hatékonysági százaléktételeket az 17. ábra szemlélteti. A megállapított értékek hasonló hatékonyságot mutattak, mint a petri csészés vizsgálat eredményei. Ennek megfelelően a kontrollal megegyezően az 1 perces kezelés semmilyen hatással nem volt a vesszőkön lévő telepekre. A 3 percig tartó besugárzás már csekély mértékű, 14%-os hatékonyságot mutatott. A szaporítóanyag növényegészségügyi szempontjait szem előtt tartva szintén elenyésző mértékű, csupán 29%-os hatékonyságot mértünk a 10 perces megvilágítást követően. A vesszők 30 perces kezelése után 50, míg a 60 percig tartó besugárzás után 94%-os hatékonyságot tapasztaltunk.



17. ábra. Szőlővesszők UV-C fényel történő megvilágításának hatékonysági százalék értékei a logaritmikusan emelkedő időtartamoknak megfelelően. A kezelés hatása a tenyészedényes kísérlethez hasonló volt.

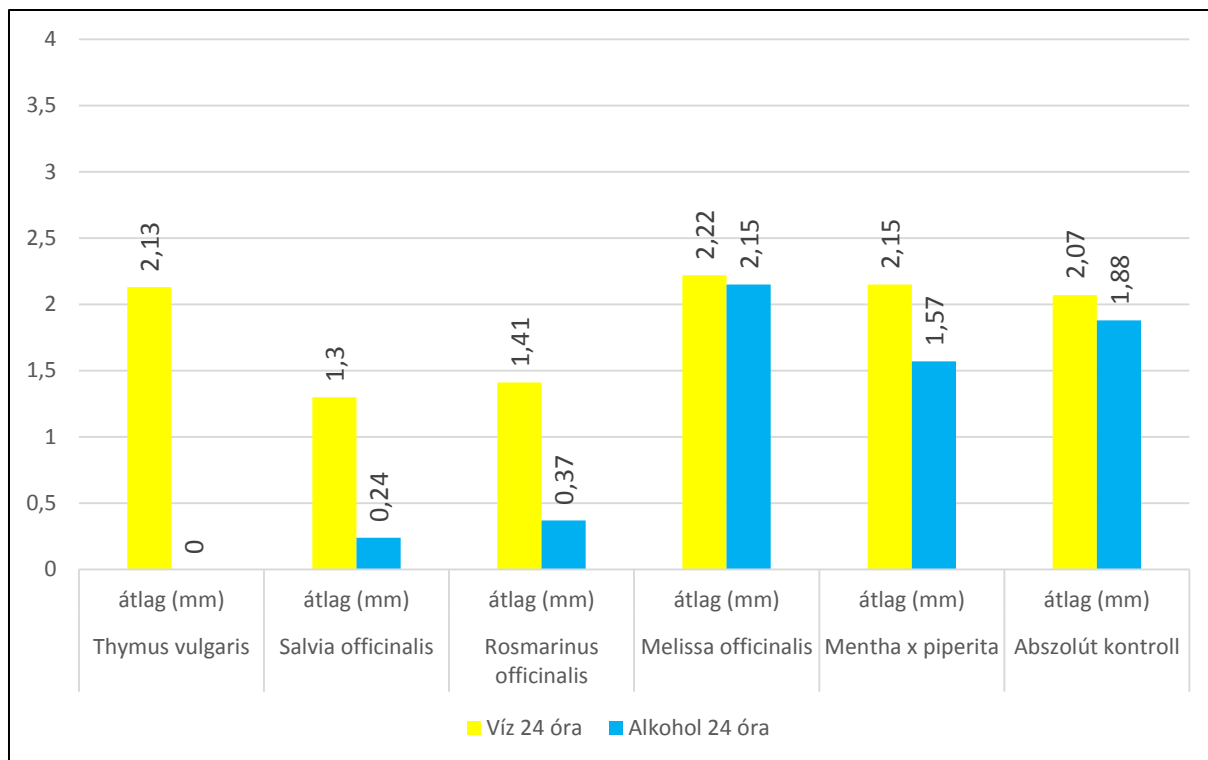
5.4.2 Növényi kivonatok hatása – 1. vizsgálat

Az első vizsgálatban a kivonatokhoz öt növényt használtunk, melyek a *Salvia officinalis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Melissa officinalis* és *Mentha × piperita* voltak, oldószerként vizet és etanolt alkalmaztunk. Mérgezett agaron (PDA) vizsgáltuk gyógynövénykivonatok hatását a gombatelepek fejlődésére.

A gyógynövénykivonatok gombák fejlődésére gyakorolt hatását a 18. és 19. ábrák szemléltetik. Az oszlopok a fejlődött telepek átlagos méreteit mutatják.

A vizes kivonatok közül 24 óra elteltével a kontrollhoz viszonyítva a zsálya (*Salvia officinalis*) és a rozmaring (*Rosmarinus officinalis*) gátolta leginkább a micélium növekedését. A kakukkfű (*Thymus vulgaris*), a citromfű (*Melissa officinalis*) és a menta (*Mentha × piperita*) kivonata hatására a telepek nagyobb átmérőt értek el 24 óra után, mint a kontroll.

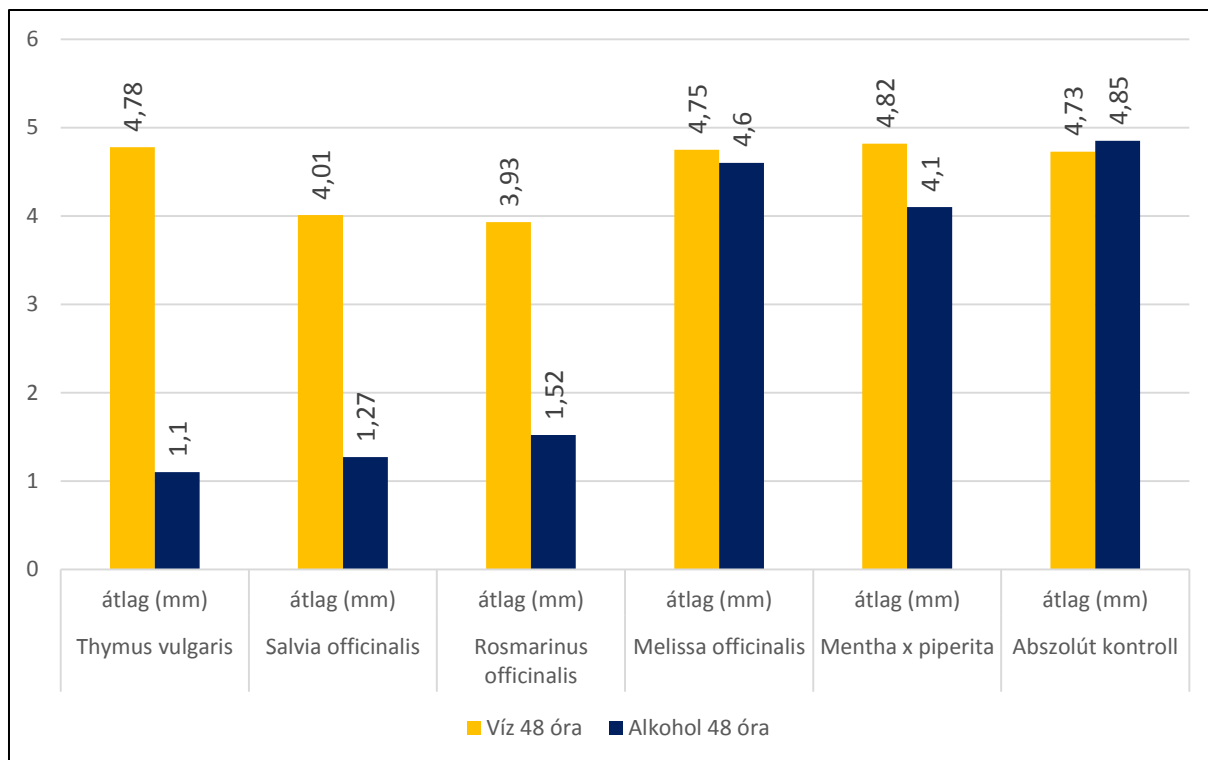
Az alkoholos kivonatok minden kezelésnél a kontrollhoz viszonyítva az alacsonyabb fejlődési értéket mutatták. A kakukkfű teljes mértékben gátolta a micélium növekedését, emellett a zsálya és rozmaring is jelentősen gátolta azok fejlődését. A kontrollhoz mérten a menta kivonat hatására fejlődött kisebb méretű gombatelep, viszont a citromfű (*Melissa officinalis*) kezelés eredményeként a kontrollnál nagyobb telep fejlődött.



18. ábra. Vizes (sárga oszlop) és alkoholos (kék oszlop) gyógynövénykivonatok *B. cinerea* növekedésére gyakorolt hatása 24 óra inkubációs idő után összehasonlítva a kontroll kezelésekkel. Az értékek a gombatelepek átlagos átmérőit jelölik mm-ben ábrázolva.

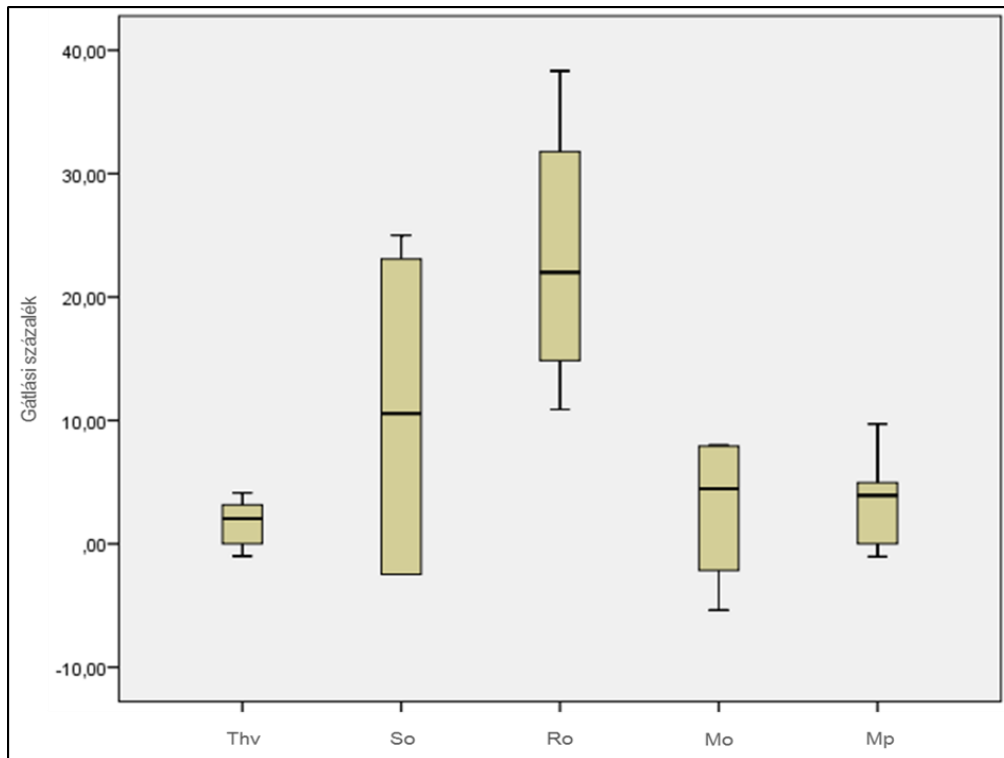
Hasonló tendencia látszott a vizsgálatban 48 óra után. Vizes kivonatoknál a zsálya és a rozmaring gátolta legnagyobb mértékben a gomba micélium fejlődését, míg a többi kivonat a kontrollhoz hasonló telep méreteket eredményezett.

Az alkoholos kivonatoknál már jelentős eltérést tapasztaltunk az egyes kivonatok hatásai között. Ebben az esetben is a kakukkfű, a zsálya és a rozmaring alkoholos kivonata gátolta leginkább a micélium fejlődését. Átlagban a citromfű és a menta alkoholos kivonata nagyobb mértékben akadályozta a gomba fejlődését, de e kivonatoknál a mért értékek nem maradtak el jelentősen a kontroll kezelés értékeitől.



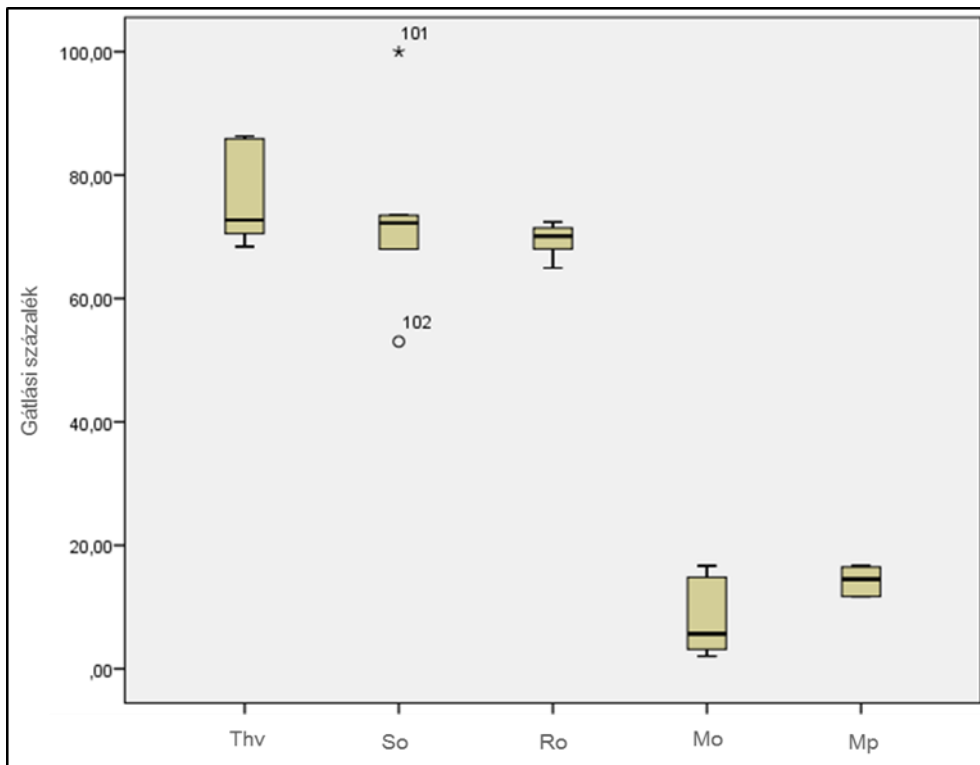
19. ábra. Vizes (sárga oszlop) és alkoholos (kék oszlop) gyógynövénykivonatok *B. cinerea* növekedésére gyakorolt hatása 48 óra inkubációs idő után összehasonlítva a kontroll kezelésekkel. A gombatelepek átmérőinek átlagát mm-ben jelöltük.

A 20. ábra a vizes kivonatok gátlási százalékeredményeit mutatja 48 óra inkubálás után vizes kivonatok esetében. A doboz ábrán a gátlás mértékét szemléltettük százalékos értékekkel, ahol látható, hogy legkevésbé a kakukkfűves kezelés gátolta a gomba micélium növekedését, hasonlóan a citromfű és a menta csekély gátló hatásához. Bár az átlagos értékek hasonlóak voltak a zsálya és a rozmaring kivonatnál, a középérték esetében kitűnik a zsálya csekélyebb gátló hatása. Leginkább a rozmaring vizes kivonata gátolta a gomba fejlődését 48 óra elteltével.



20. ábra. A vizes alapú gyógynövénykivonatok *B. cinerea* növekedésére gyakorolt hatásának gátlási százalék értékei 48 óra inkubálás után. Rövidítések: Thv = *Thymus vulgaris*; So = *Salvia officinalis*; Ro = *Rosmarinus officinalis*; Mo = *Melissa officinalis*; Mp = *Mentha x piperita*.

A 21. ábra az alkoholos kivonatok gátlási százalékos értékeit szemlélteti. Jól látható, hogy közel azonos középértékekkel, eltérő szórás jellemzőkkel a kakukkfű, a zsálya és a rozsmaring kivonata jelentős mértékben gátolta a *Botrytis cinerea* gomba micélium növekedését. A citromfű és a menta kivonatok gátló hatása azonban lényegesen elmaradt az előbbi három kivonat hatásától.



21. ábra. Az alkoholos gyógynövénykivonatok *B. cinerea* növekedésére gyakorolt hatásának gátlási százalékos értékei 48 óra inkubálás után. Rövidítések: Thv = *Thymus vulgaris*; So = *Salvia officinalis*; Ro = *Rosmarinus officinalis*; Mo = *Melissa officinalis*; Mp = *Mentha x piperita*.

5.4.3 Növényi kivonatok hatása – 2. vizsgálat

A második vizsgálatban alkoholos gyógynövénykivonatok hatását vizsgáltuk mérgezett agar módszer alkalmazásával. Ez alkalommal az orvosi zsályát (*Salvia officinalis*), a rozmaringot (*Rosmarinus officinalis*) és a kakukkfűvet (*Thymus vulgaris*) vontuk kísérletbe önmagukban, valamint kettes és hármas keverékekben.

A 22. ábra az alkoholos gyógynövénykivonatok hatását mutatja be a 2. vizsgálatban. A diagram-sorozaton jól nyomon követhető az egyes alkoholos kivonatok telepfejlődésre gyakorolt hatásának dinamikája, emellett az értelmezhetőség megkönnyítéséért a pontos értékeket tartalmazó 6. táblázat alapján magyarázzuk el a vizsgálat eredményét.

6. táblázat. Az alkoholos gyógynövény-kivonatoknak és kivonatok keverékeinek hatása a *B. cinerea* telepek fejlődésére (telepátmérők mm-ben kifejezve). Rövidítések: C = kontroll kezelés; Thv = *Thymus vulgaris*; So = *Salvia officinalis*; Ro = *Rosmarinus officinalis*. Jelölések: zöld: legkisebb telep; piros: legnagyobb telep; szürke: kontroll kezelésnél nagyobb telep.

	C	Thv	So	Ro	Ro + So	Ro + Thv	Thv + So	Ro + Thv + So
24 óra	8,7	14,3	0,0	7,0	5,9	12,4	3,9	9,2
48 óra	23,3	23,7	8,1	18,3	23,6	24,9	16,9	21,9
72 óra	36,0	31,3	20,5	30,8	40,4	35,9	28,3	34,0
96 óra	56,0	41,6	42,2	48,0	65,2	54,5	47,3	51,8
112 óra	70,1	53,1	55,8	62,9	76,5	66,8	58,7	65,8
126 óra	85,0	65,9	75,8	79,0	82,7	77,7	73,4	75,9

Az inkubációs idő végére a kontroll kezelés esetében a gomba teljesen benőtte a petri csészében rendelkezésre álló területet.

Kezdetben (24 óra) a telepek fejlődése egyenetlen volt, jelentős mértékű különbség mutatkozott az átmérők között. Míg a zsályá kivonat teljes mértékben gátolta a telep fejlődését, addig a kakukkfű kivonat hatására 14,3 mm átmérőjű micélium-szövedéket mértünk. A 2. nap végére a zsályá kivonata szintén erőteljes gátló hatást mutatott, azonban a kakukkfű (Thv) kivonata, illetve a keverékek közül a rozmaring+zsályá (Ro+So) és a rozmaring+kakukkfű (Ro+Thv) erőteljesebben fejlődött a kontrollhoz képest. A bokszt plot ábrákból is kitűnik, hogy míg a

kontroll kezelés értékei egy szűk intervallumon belül maradtak, addig a kivonatok hatására heterogén adatokat kaptunk.

A kakukkfű (Thv) kivonat hatására a telepek dinamikus kezdeti fejlődése (14,3 és 23,7 mm) után 72 óra elteltével már a kontrollhoz (56 mm) képest kisebb (41,6 mm) telepek fejlődtek. Az erőteljes inhibíciós hatás eredményeként a vizsgálatban 96 órát követően valamennyi megfigyelési időpontban középértéket tekintve a kakukkfű kivonata gátolta legnagyobb mértékben a *B. cinerea* fejlődését, azonban végig megfigyelhető volt az értékek nagy szórása.

A zsálya (So) kivonatának erős micélium növekedését gátló hatása a kísérletben végig feltűnő volt, a 24, 48 és 72 órás megfigyelési időpontoknál ezek a telepek fejlődtek (0, 8,1 és 20,5 mm) legcsekélyebb mértékben.

A rozmarying (Ro) kivonat esetében egy szinte lineárisan növekvő adatsort kaptunk. A kontroll kezeléshez képest az inkubációs idő alatt végig alacsonyabb középértéket mértünk.

A gyógynövényeket keverékekben alkalmazva a kakukkfű-zsálya (Thv+So) esetén a gátló hatás mindkét egymagában alkalmazott kivonathoz képest gyengébb volt, de 96 óra után már alacsonyabb középértékeket kaptunk, mint a kontroll esetében, és a kakukkfűves (Thv) kezelés értékeinek nagy szórása ebben az esetben is megfigyelhető volt.

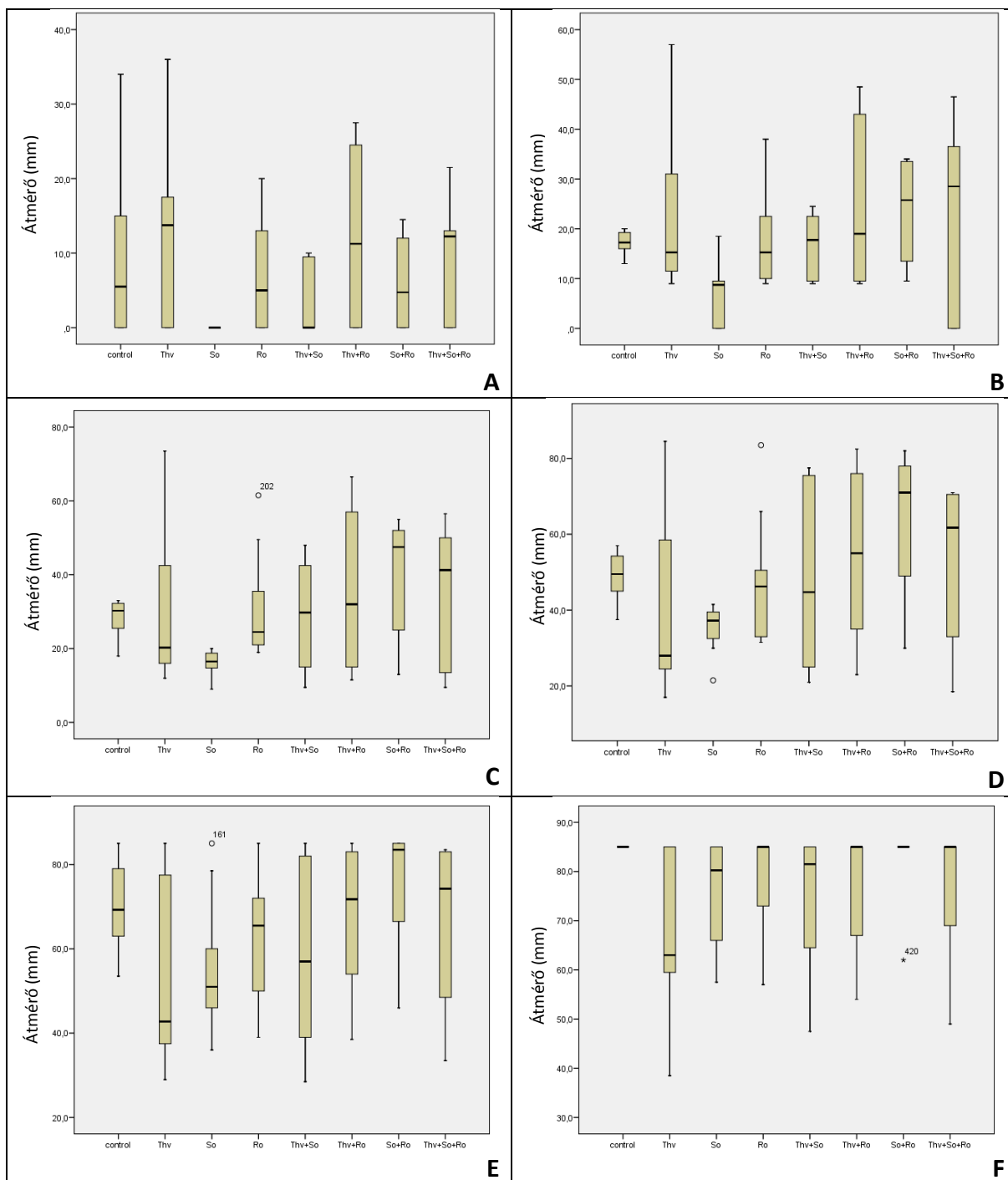
A rozmarying-kakukkfű (Ro+Thv) kezelés hatása az első két napban a kontrollnál nagyobb telepeket eredményezett, ezután minden mérési időpontban alacsonyabb értékeket mértünk, azonban a különbség nem volt számottevő. Az önmagában alkalmazott kakukkfű és rozmarying kivonathoz viszonyítva, a teljes vizsgálat ideje alatt - a rozmarying (Ro) 24 órás adata kivételével - minden esetben magasabb értéket mértünk.

A rozmarying-zsálya (Ro+So) kezelés az inkubációs idő alatt végig csekélyebb mértékben gátolta a gomba növekedését, mint az önmagukban alkalmazott kivonatok, emellett 72 és 112 óra közötti intervallumban a legnagyobb telepméreteket eredményezte (40,4, 65,2 és 76,5 mm).

A három gyógynövénykivonat együttes alkalmazásánál a telepméretek átlagát tekintve 48 órától kezdve a kontrollhoz viszonyítva kisebb értékeket kaptunk, bár nem számottevően.

A három gyógynövény egyszerű, kombinált és komplex kivonatának gátló hatása szempontjából szignifikáns különbség mutatkozott az első két napon a kontroll (C) és a zsálya (So) kivonat között. Három nap elteltével a gátló hatás a zsálya (So) kivonat alkalmazása esetén még mindig szignifikáns különbséget mutatott a kontrollhoz viszonyítva, azonban erőteljes serkentő hatást mutatott a rozmarying-zsálya (Ro+So) kombináció. Hasonló hatást tapasztaltunk

96 óra után is, 112 óra elteltével a kontrollhoz képest a zsálya (So) szignifikánsan gátolta a gomba fejlődését, és 126 óra után szignifikáns gátló hatás mutatkozott a kakukkfű (Thv), a zsálya (So) és a kakukkfű-zsálya (Thv+So) kivonatnál. Emellett erőteljes gátló hatásról beszélhetünk a rozmaring-kakukkfű (Ro+Thv) és a rozmaring-kakukkfű-zsálya (Ro+Thv+So) kezelés esetében is.



22. ábra. Az alkoholos gyógynövénykivonatok és kombinációik hatása az egymást követő adatfelvételezési időpontokban. Inkubációs időtartamok: A: 24 óra; B: 48 óra; C: 72 óra; D: 96 óra; E: 112 óra; F: 126 óra. Rövidítések: control = kontroll kezelés; Thv = *Thymus vulgaris*; So = *Salvia officinalis*; Ro = *Rosmarinus officinalis*.

6 EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE

A szőlővessző alaktana és keresztmetszetének szöveti felépítése a szőlőtermesztésben, különösen a szőlőszaporításban egy genotípus fontos jellemzője.

A szakirodalom a szőlő szárának felépítését aszimmetrikusnak írja (Kozma, 1991), melyet megfigyeléseinkkel teljes mértékben alátámasztottunk (5.1. fejezet, 5. ábra). Schenk (1893) nyomán a részaránytalán fejlődésű hajtásszárat és a vesszőt dorziventrálisnak (háti-hasi oldal) írták le. A részaránytalán fejlődést elismerve, azonban alaktani szempontból egyértelmű nevezéktant készítettünk el, melyet a szár nóduszának keresztmetszeti jellemzőivel támasztottunk alá (5.1. fejezet, 6. ábra). A kacs (tendrill, TN) oldalával szemközti oldalon fejlődik a téli rügy (dormant bud, DB), melynek – szemből nézve – bal oldalán a hónaljajtás kezdeménye (lateral bud, LB), míg jobb oldalán a levél (leaf, LF) található. Az általunk leírt nevezéktan alapján a szár oldalai egyértelműen megkülönböztethetők, szemben a jelenleg elterjedten használt háti-hasi; csatornás vagy barázdás – lapos oldal elnevezésekkel (Pratt, 1974).

A vessző szöveti felépítésének és a keresztmetszet alakjának az oltványkészítési folyamatokban is szerepe van. A fajtára jellemző forma az oltási elemek összeolthatóságát is befolyásolja, és az egyes oldalak kalluszképzési jellegzetességei is eltérnek. A szaporítóanyag előállítása mellett a fajták beazonosítása is fontos feladat, mert a vegetációs időben jellegzetes alaktani jellemzők (Németh, 1967, 1970, 1975) az oltási időszakban nincsenek, vagy nem egyértelműek a vesszőkön. A 15 alany- és 5 nemes fajta keresztmetszetének szöveti jellemzésével leírást készítettünk a fajták eltérő tulajdonságairól. Megállapítottuk a bélsugarak számának, a fa/bél arálynak, a vessző alakjának és a xylem jellemzőinek fajtankénti eltérését (5.1. fejezet, 4. melléklet). A jellegzetességek hatással lehetnek számos tényezőre, mely az eredményes szaporítóanyag-előállítás alappilléjét jelentik. Az egyes vesszőoldalakon eltérő a kalluszképzés jellegzetessége (Hegedűs, 1966). A fa/bél arány hatással van a farészben tárolt tápanyagok mennyiségére, így közvetve befolyásolja az áttelelési képességet. A farész szövettani felépítése a tracheák jellemzőin keresztül befolyásolhatja a tőke vízállapotát, a tápanyagellátási folyamatait, ezáltal pedig az általános egészségi állapotát. Az egyedi jellemzőket régóta fajtatulajdonságként tartják számon (Németh, 1967, 1970, 1975). Ahogy ez a hajtások és vesszők esetében a külső, szabad szemmel látható tulajdonságok figyelembe vételével történhet, úgy a szöveti jellemzők is adatokat szolgáltathatnak a fajták megkülönböztetéséhez a téli időszakban, mikor az oldalszervek nincsenek a vesszőn.

Elad et al. (2007) megállapítása szerint a *Botrytis cinerea* minden földrajzi övezeten képes életben maradni. Rendkívüli ellenállóképessége, az eltérő környezeti körülményekhez történő alkalmazkodása vizsgálatainkban is megmutatkozott (6. melléklet). A szaporítóanyag előállítás folyamata alatt a növényi anyagot javasoljuk minél rövidebb ideig 5°C-nál melegebb hőmérsékleten tartani. Kísérleteinkkel rávilágítottunk, hogy az alacsony hőmérséklet valamelyest lelassítja ugyan a kórokozó növekedését, de rövid idő alatt képes behozni a magasabb hőmérsékleten fejlődő telepek méretét (8. ábra). A sporulációt figyelembe véve látható volt, hogy elsősorban a fény hiánya akadályozta a folyamatot, másodsorban pedig a hőmérséklet (9. ábra). A szklerócium képződésének a magas hőmérséklet kedvezett, itt már egy hét után megjelentek a kitartó képletek (10. ábra). Látható tehát, hogy a 20°C-os hőmérséklet minden szempontból kedvez a kórokozó életfolyamatainak. Ebből kiindulva a feldolgozó helyiségek alacsony hőmérsékleten tartására, valamint a növényanyag tároló és feldolgozó helyisége közötti gyorsabb mozgására hívjuk fel a figyelmet, ami a feldolgozás szervezési feladatainak precíz logisztikájára helyezi a hangsúlyt. Emellett a tárolás szabályozott körülményei is szerepet játszanak a növényanyag egészségi állapotának megőrzésében. A különböző termőhelyről származó izolátumok vizsgálatainak eredményei alapján megállapítottuk, hogy a kórokozó termőhelyi specifitással rendelkezik (12. ábra).

Az előhajtató helyiségben legnagyobb gondot okozó *Botrytis cinerea* (Eifert et al., 1981) megelőzésére Magyarországon 1998 óta nem áll rendelkezésre engedélyezett készítmény, mellyel a vesszők fungicides áztatása elvégezhető (Növényvédő szerek, termésnövelő anyagok, 1998). Az általunk leírt, UV-C fényel végzett eljárás (5.4.1. fejezet) folytatólagosan alkalmazható a szakirodalomban (Berkelmann-Löhnertz, 2015) leírt kezeléseket után, de az ültetvényben alkalmazott bármilyen növényvédelmi technológiát követően önállóan is elvégezhető a növényi alapanyag fertőtlenítésére. Meghatároztuk, hogy az UV-C fény adott hullámhosszával végzett 10 perces kezelés már alkalmas a kórokozó gyérítésére (14. ábra).

Növényi kivonatok antifungális hatásáról számos szakirodalom beszámol (Haouala et al. 2008, Gatto et al. 2011), de a szőlő szaporítóanyag fertőtlenítéséről, és a munkafolyamatok alatt ténylegesen a *Botrytis cinerea* elleni alkalmazhatósággal kapcsolatban nem végeztek kutatásokat. Eredményeink (5.4. fejezet) rámutattak, hogy *in vitro* tesztekben a kakukkfű, a zsálya, a rozmarin vizes és alkoholos kivonata (18., 19., 20., 21. ábra), és ezek bizonyos kombinált formái (22. ábra) hatékonyan gátolják a gomba növekedését.

7 ÖSSZEFOGLALÁS

A szőlő szaporítóanyag előállítás folyamatában a gombák jelentős kárt tudnak okozni. Hangsúlyosan a *Botrytis cinerea* polifág kórokozó ellen szükséges védekeznünk, azonban a jelenleg hatályos Európai Uniós jogszabályok nem adnak lehetőséget az eddig – növényegészségügyi szempontból – eredményesen használt készítmény további alkalmazására. Felmerült az igény olyan környezetbarát, a humán egészségre sem ártalmas készítmények és eljárások kifejlesztésére, melyek eredményesen alkalmazhatók a kórokozó elleni védekezésben.

Kutatásunk alatt szőlővesszők szöveti felépítésével foglalkoztunk. A Georgikon Tanüzem Kft. csersegtomaji kísérleti szőlőtelepén gyűjtöttünk be szőlő alany- és nemes fajtákat három évben, 2013-ban, 2014-ben és 2016-ban. Ezekből különböző eljárásokkal metszeteket készítettünk, mértük a fa/bél arányt és a bélsugarak számát. A 2014-es mintákról leírást készítettünk, ahol megfigyeltük a bélsugarak számát, a fa/bél arányt, a vessző keresztmetszetének formáját, valamint a xylem jellemzőit, így a tracheák méretét, elhelyezkedésüket, számukat egy nyalábon belül, illetve az egyes oldalakhoz tartozó egyedi jellemzőket.

A szőlő oltása szempontjából lényeges az egyes vesszőoldalak egymáshoz viszonyított helyzete. Ezek az oldalak eltérő tulajdonságokkal rendelkeznek mind felépítés, mind a lezajló, oltványkészítés szempontjából fontos folyamatok szempontjából. Az új nevezéktan pontosabb elnevezéseket tartalmaz, melyek tükrözik a szőlővessző egyes oldalainak funkcióját is.

Kutatásunkban eltérő környezeti körülmények között megfigyeltük a *Botrytis cinerea* izolátumok telepfejlődési tulajdonságait. Megállapítottuk, hogy a kórokozó érzékenyen reagál a hőmérsékletre, ami nagy jelentőséggel bír az oltványkészítés munkaszervezési feladatai és az előhajtás szempontjából. Megállapítottuk továbbá, hogy a morfológiailag eltérő fejlődésű izolátumokra termőhelyi specifikusság jellemző.

Kísérleteket állítottunk be UV-C fényvel, ahol az alkalmazott hullámhosszúságú fény gátló hatással volt a *B. cinerea* telepfejlődésére, míg a sporulációt serkentette, amennyiben a kezdeti stádiumban érte a besugárzás. Ez az eredmény hozzájárulhat a növényanyag, a tároló és a hajtató helyiség fertőtlenítési protokolljának kidolgozásához.

Munkánk során nagy hangsúlyt kaptak a növényi kivonatok. Mérgezett táptalaj és korongdiffúzió módszerével, valamint a teljes oltványkészítési folyamat modellezésével

végeztük el a teszteket. Ezekben a zsálya, a rozmaring és a kakukkfű is gátló hatással rendelkeztek *in vitro* körülmények között. Eredményeink alapján kijelenthetjük, hogy a növényi kivonatok kiaknázatlan lehetőségeket rejtnek magukban.

8 TÉZISPONTOK

8.1 Tézispontok

1. A 15 alany és 5 nemes szőlőfajta vessző-keresztmetszetének egyedi jellemzői alapján megállapítottuk, hogy a bélsugarak számáról, a fa-bél arányról, a vessző keresztmetszetének alakjáról, a tracheák elhelyezkedéséről és mintázataról megszerzett ismeretek lehetőséget adnak a szőlőfajták megkülönböztetésére és azonosítására.
2. A szár keresztmetszete és azon elhelyezkedő szervei alapján új nevezéktant készítettünk a szőlővesszők oldalainak elnevezésére, mely szerint téli rügy oldalt, kacs oldalt, levél oldalt és hónaljajtás oldalt különböztettünk meg.
3. A *Botrytis cinerea* izolátumok telepmorfológiai tulajdonságai alapján megállapítottuk, hogy az eltérő környezeti körülményekhez adaptálódnak. Az új ismeretek hozzájárulnak a tároló-, hajtató- és feldolgozó helyiségekben alkalmazott védekezési metódus hatékony kidolgozásához a szőlő szaporítóanyag előállítási folyamatában.
4. A *Botrytis cinerea* két földrajzilag elkülönített csoportjának fejlődésbeli különbségei alapján megállapítottuk, hogy a kórokozó termőhelyi specifikusságot mutat, mely információ magyarázatot adhat a szaporítási folyamat alatt fellépő esetleges fertőzés dinamikájára, és kiindulási alapot nyújthat a védekezési technológia kidolgozásához.
5. Megállapítottuk, hogy az UV-C fény 253,7 nm hullámhosszon, 10 percnél hosszabb ideig történő alkalmazása a fertőzött szőlővesszők esetében hatékony a gomba gyérítésére.
6. Megállapítottuk, hogy *in vitro* körülmények között a kakukkfű (*Thymus vulgaris* L.), a rozmaring (*Rosmarinus officinalis* L.) és a zsálya (*Salvia officinalis* L.) alkoholos kivonatai mind önmagukban, mind keverékben alkalmazva gátolják a *Botrytis cinerea* micélium növekedését, amely eredmény előrevetíti a növényi kivonatok alkalmazási lehetőségeit a szaporítóanyag előállítás folyamatában.

8.2 Thesis points

1. We gave a description of the individual characteristics of 15 rootstocks and 5 noble cultivars on the basis of evaluation of grapevine canes. We established, that the knowledge about the number of pith rays, xylem-pith ratio, the shape of the cross-section of a cane, the position and the patterns of the tracheas is to allow to the differentiation, to the identification of the grapevine cultivars.
2. We collect a novel nomenclature of the grapevine cane sides on the basis of the structure of the cross-section.
3. Based on the colonial morphology of *Botrytis cinerea* isolates we found the high degree of resilience of the pathogen to the different environmental conditions.
4. Based on the development differentials of two geographical segregated group of *Botrytis cinerea* was determined that the pathogen indicates habitat specificity.
5. The UV-C light stimulates the sporulation process in the early stage of sporogenesis. We established the ability of the UV-C light on this specific wavelength used more than 10 minutes for the control of the pathogen.
6. Ethanol extract of some herbs (*Thymus vulgaris* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Salvia officinalis* L.) inhibits the development of the pathogen during in vitro tests. We established the significant inhibition effect of the thyme, sage and the thyme-sage extract after 126 hours. The combination of thyme-rosemary and thyme-sage-rosemary extract also had a strong inhibition effect on the growth of the *Botrytis cinerea* mycelia.

9 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek, Dr. Kocsis László egyetemi tanárnak, aki útmutatásaival, ötleteivel, támogatásával segítségemre volt és inspirált.

Köszönöm Dr. Astrid Forneck-nek, hogy helyet adott számomra az Universität für Bodenkultur Tulln-i Intézetében, és szakmai instrukciói hozzájárultak eredményeimhez. Külön köszönöm Sara Crespo-Martínez segítségét, aki az ERASMUS+ program során végig figyelemmel kísérte és felügyelte munkámat, emellett pedig köszönöm az Intézet összes munkatársának, hogy színesítették és megkönnyítették a családomtól távol töltött három hónapot.

Szeretném megköszönni Dr. Cseh Eszternek, hogy segítségével megtapasztalhattam a gyógynövényekben rejlő lehetőségeket.

Köszönettel tartozom a Pannon Egyetem Georgikon Kar Kertészeti Tanszék minden munkatársának a szakmai és emberi támogatásért az ott töltött időszak alatt.

Köszönöm jelenlegi munkahelyem, a Pannon Egyetem Georgikon Kar Növényvédelmi Intézet Igazgatójának, Dr. Takács András Péternek, valamint kollégáimnak a türelmet, támogatást és bátorítást a felkészülésem ideje alatt.

Köszönetemet szeretném kifejezni azon termelőknek és intézeti dolgozóknak, akik segítségemre voltak a kórokozó mintáinak begyűjtésében.

Köszönettel tartozom a Növénytudományi és Biotechnológiai Tanszék vezetőjének, Dr. Taller Jánosnak, hogy lehetővé tette a mikroszatellit vizsgálatok elvégzését. Köszönöm emellett Dr. Kolics Balázsnak a gyakorlati kivitelezésben nyújtott segítségét, és hogy bevezetett a molekuláris laboratóriumi munka rejtelmeibe.

Köszönöm Dr. Nagy Zóra Annamáriának, hogy a mikroszatellit eredmények kiértékelésében és értelmezésében segítő kezet nyújtott.

Köszönöm Dr. Poór Juditnak és Dr. Menyhárt Lászlónak a statisztikai értékelésekben nyújtott segítséget.

Köszönöm Édesanyámnak, aki mindig támogatott és bízott bennem, akire a legnehezebb időszakokban is számíthattam.

Köszönöm Édesapámnak, aki repülőmérnökként kitartásával, precizitásával és újító szellemével követendő példát mutatott egész életemben.

Köszönöm Nővéremnek, aki a nyelvi fordítások és megfogalmazások tudójaként mindig segítségemre volt, ha megakadtam.

Köszönöm Gyermekeimnek, akik türelemmel és megértéssel viselték, hogy bár fizikailag velük voltam, fejben sokszor máshol jártam.

10 FELHASZNÁLT IRODALOM

- Abbott, W.S. (1925): A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- Abdellatif, F., Boudjella, H., Zitouni, A., Hassani, A. (2014): Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from leaves of Algerian *Melissa officinalis* L. *EXCLI Journal* 13: 772-781.
- Abou-Zeid, N. M., Dorriah, I. H., Marwa, A. A. (2002): Application of Molecular Methods for Characterization of *Botrytis fabae* and *Botrytis cinerea* of Faba Bean. *Plant Protection Science*, 38 (Special Issue 2): 314-318.
- Akutsu, K., Kobayashi, Y., Matsuzawa, Y., Watanabe, T., Ko, K. and Misato, T. (1981): Morphological studies on infection process of cucumber leaves by conidia of *Botrytis cinerea* stimulated with various purine-related compounds. *In: Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. and Delen, N. (eds.), Botrytis: Biology, Pathology and Control.* 2007 Springer, Dordrecht pp. 9-27.
- Alves-Silva, J.M., Diasdos Santos, S.M., Pintado, M.E., Pérez-Álvarez, J.A., Fernández-López, J. and Viuda-Martos, M. (2013): Chemical composition and *in vitro* antimicrobial, antifungal and antioxidant properties of essential oils obtained from some herbs widely used in Portugal. *Food Control.* 32: 371-378.
- Amalfitano, C., Evidente, A., Surico, G., Tegli, S., Bertelli, E., Mugnai, L. (2000): Phenols and stilbene polyphenols in the wood of esca-diseased grapevines. *Phytopathol. Mediterr.* 39, 178-183.
- Anderson, J. P. (1924): *Botrytis cinerea* in Alaska. *Phytopathology*, 14: 152-155.
- Backhouse, D. and Willets, H.J. (1984): A histochemical study of sclerotia of *Botrytis cinerea* and *Botrytis fabae*. *Can. J. Microbiol* 30, 171-178.
- Basch, E., Ulbricht, C., Hammerness, P., Bevins, A., Sollars, D. (2004): Thyme (*Thymus vulgaris* L.), thymol. *Journal of herbal pharmacotherapy*, 4(1): 49-67.
- Bal, E., Kok, D. (2009): Effects of UV-C treatment on kiwifruit quality during the storage period. *Journal of Central European Agriculture* 10, No 4.
- Becker, H. (1965): *Botrytis* und Rebenveredlung in Probleme der Rebenveredlung, Vorträge der IX. Geisenheimer Rebenveredlertagung 1965, Heft 5. p58-72.

- Ben Khedher, M. R., Ben Khedher, S., Chaieb, I., Tounsi, S., Hammami, M. (2017): Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia. *EXCLI Journal*, 16: 160-173.
- Benito, E.P., Ten Have, A., Van't Klooster, J.W. and Van Kan, J. A. L. (1998): Fungal and plant gene expression during synchronized infection of tomato leaves by *Botrytis cinerea* *In: Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. and Delen, N. (eds.), Botrytis: Biology, Pathology and Control. 2007 Springer, Dordrecht, pp. 99-118.*
- Bényei F, Lőrincz A, Szendrődy Gy, Sz.Nagy L and Zanathy G. (1999): Szőlőtermesztés. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- Berkelmann-Löhnertz, B., Klärner, S., Flemming, B., Schwarz, H.-P., Keicher, R., Pfliehinger, M., Löhnertz, O. (2015): Results of two consecutive years on mould prevention in viticulture by means of UV-C application of vines (*Vitis vinifera* L.). *Web of Conferences* 5, 01025.
- Bernáth, J. (1985): Speciális növényi anyagok produkciobiológiája. Doktori értekezés, MTA, Budapest.
- Bernáth, J. (1993): Vadon termő és termesztett gyógynövények. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- Boso, S., Alonso-Villaverde, V., Gago, P., Santiago, J.L. and Martínez, M.C. (2011): Susceptibility to downy mildew (*Plasmopara viticola*) of different *Vitis* varieties. *Crop Protection*, 63: 26-35.
- Boso, S., Gago, P., Alonso-Villaverde, V., Santiago, J.L., Mendez, J., Pazos, I. and Martínez, M.C. (2011): Variability at the electron microscopic level in leaves of members of the genus *Vitis*. *Scientia Horticulturae*, 128: 228-238.
- Bristow, P.R., McNicol, R.J. and Williamson, B. (1986): Infection of strawberry flowers by *Botrytis cinerea* and its relevance to grey mould development *In: Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. and Delen, N. (eds.), Botrytis: Biology, Pathology and Control. 2007 Springer, Dordrecht, pp. 243-272.*
- Chervin, C., Westercamp, P., Monteils, G. (2005): Ethanol vapours limit *Botrytis* development over the postharvest life of table grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 36: 319-322.
- Cole, L. - Dewey, F.M. - Hawes, C.R.. (1996) Infection mechanisms of *Botrytis* species: pre-penetration and pre-infection processes of dry and wet conidia. *Mycol. Res.* 100 (3): 277-286.
- Coley-Smith J. R., Verhoeff K., Jarvis W. R. (1980): The biology of *Botrytis*. Academic Press. London, UK.
- Comménil, P., Belingheri L., Sancholle, M. and Dehorter, B. (1995): Purification and properties of an extracellular lipase from the fungus *Botrytis cinerea* *In: Elad, Y., Williamson, B.,*

- Tudzynski, P. and Delen, N. (eds.), *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. 2007 Springer, Dordrecht, pp. 99-118.
- Comménil, P., Belingheri, L. and Dehorter, B. (1998): Antilipase antibodies prevent infection of tomato leaves by *Botrytis cinerea* *In: Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. and Delen, N. (eds.), Botrytis: Biology, Pathology and Control*. 2007 Springer, Dordrecht, pp. 99-118.
- Comménil, P., Belingheri, L., Bauw, G. and Dehorter, B. (1999): Molecular characterization of a lipase induced in *Botrytis cinerea* by components of grape berry cuticle *In: Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. and Delen, N. (eds.), Botrytis: Biology, Pathology and Control*. 2007 Springer, Dordrecht, pp. 99-118.
- Cseh A.M., Hochbaum T., Pluhár Zs. és Nagy G. (2014): Kerti kakukkfű (*Thymus vulgaris* L.) kemotípusok illóolajának és kivonatainak antifungális és fitotoxikus hatása *in vitro* körülmények között. 60. Növényvédelmi Tudományos Napok 74. (Abstr.)
- Csokonai Vitéz, M. (1804): Dorottya vagyis a dámák diadalma a fárságon. Furcsa vitézi versezet négy könyvben. Nagyvárad, pp. 57.
- Daferera, D. J., Ziogas, B. N., Polissiou, M. G. (2003): The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. *Crop Protection*, 22: 39-44.
- Dardeniz A, Müftüoğlu NM, Gökbayrak Z, Fırat M. (2007): Assessment of morphological changes and determination of best cane collection time for 140 RU and 5 BB. *Sci Hort* 113:87-91.
- De Jong, J. C., McCormack, B.J., Smirnoff, N. and Talbot, N. J. (1997): Glycerol generates turgor in rice blast *In: Vidhyasekaran, P. (ed.), Fungal Pathogenesis in Plants and Crops*. 2008 Taylor & Francis Group, Boca Raton, pp. 1-53.
- Doss, R. P. (1999): Composition and enzymatic activity of the extracellular matrix secreted by germlings of *Botrytis cinerea*. *In: Van Kan, J.A.L., Infection strategies of Botrytis cinerea*. *Acta Hort*. 669: 77-90.
- Doss, R. P., Potter, S. W., Chastagner, G.A. and Christian, J. K. (1993): Adhesion of nongerminated *Botrytis cinerea* conidia to several substrata. *In: Van Kan, J.A.L., Infection strategies of Botrytis cinerea*. *Acta Hort*. 669: 77-90.
- Doss, R. P., Potter, S. W., Soeldner, A.H., Christian, J.K. and Fukunaga, L.E. (1995): Adhesion of germlings of *Botrytis cinerea* *In: Van Kan, J.A.L., Infection strategies of Botrytis cinerea*. *Acta Hort*. 669: 77-90.
- Eifert, J., Hegedűs, Á., Eifert, Jné, Katona, J., Lehoczky, J. (1981): Szőlőoltvány-termesztés élettani alapon. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.

- El Ouadi, Y., Manssouri, M., Bouyanzer, A., Majudi, L., Bendaif, H., Elmsellem, H., Shariati, M. A., Melhaoui, A., Hammouti, B. (2017): Essential oil composition and antifungal activity of *Melissa officinalis* originating from North-Est Morocco, against postharvest phytopathogenic fungi in apples. *Microb Pathog.* 107:321-326.
- Elad, Y. and Volpin, H (1988): The involvement of ethylene and calcium in gray mould of *Pelargonium*, *Ruscus* and rose plants *In: Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. and Delen, N. (eds.), Botrytis: Biology, Pathology and Control.* 2007 Springer, Dordrecht, pp. 163-179.
- Engelbrecht, R. (2002): The role of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*, in *Botrytis* bunch rot on grape *In: Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. and Delen, N. (eds.), Botrytis: Biology, Pathology and Control.* 2007 Springer, Dordrecht, pp. 9-27.
- Ertürk, Ö. (2006): Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. *Biology, Bratislava.* 61(3) 275-278.
- Fekete M., Nagy G. és Palkovics L. (2009): Az illóolajok hatása a *Botrytis cinerea*, a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclamnis* és a *Sclerotinia sclerotiorum* kórokozóra. *Növényvédelem.* 45: 343-349.
- Fermaud, M. and Gaunt, R.E. (1995): *Thrips obscuratus* as a potential vector of *Botrytis cinerea* in kiwifruit *In: Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. and Delen, N. (eds.), Botrytis: Biology, Pathology and Control.* 2007 Springer, Dordrecht, pp. 9-27.
- Fermaud, M. and Le Menn, R. (1992): Transmission of *Botrytis cinerea* to Grapes by Grape Berry Moth Larvae. *Phytopathology*, 82: 1393-1398.
- Fournier, E., Giraud, T., Loiseau, A., Vautrin, D., Estoup, A., Solignac, M., Cornuet, J. M., Brygoo, Y. (2002): Characterization of nine polymorphic microsatellite loci in the fungus *Botrytis cinerea* (Ascomycota). *Molecular Ecology Notes* 2: 253-255.
- Fournier, E., Giraud, T., Brygoo, Y. (2005): Partition of the *Botrytis cinerea* complex in France using multiple gene genealogies. *Mycologia.* 97: 1251-1267.
- Gatto, M.A., Ippolito, A., Linsalata, V., Cascarano, N.A., Nigro, F., Vanadia, S. and Di Venere, D. (2011): Activity of extracts from wild edible herbs against postharvest fungal diseases of fruit and vegetable. *Postharvest Biol. Techn.* 61: 72-82.
- Gil-Ad, N.L., Bar-Nun, N. and Mayer, A.M. (2001): The possible function of the glucan sheath of *Botrytis cinerea*: effects on the distribution of enzyme activities *In: Van Kan, J.A.L., Infection strategies of Botrytis cinerea.* *Acta Hort.* 669: 77-90.
- Gindro, K., Pezet, R. and Viret, O. (2003): Histological study of the responses of two *Vitis vinifera* cultivars (resistant and susceptible) to *Plasmopara viticola* infections. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41: 846-853.

- Gindro, K., Spring, J.L., Pezet, R., Richter, J. and Viret, O. (2006): Histological and biochemical criteria for objective and early selection of grapevine cultivars resistant to *Plasmopara viticola*. *Vitis*, 45: 191-196.
- Glits, M. és Folk, Gy. (2000): Kertészeti növénykórtan. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- Gourgues, M., Brunet-Simon, A., Lebrun, M.H. and Levis, C. (2004): The tetraspanin BcPls1 is required for appressorium-mediated penetration of *Botrytis cinerea* into host plant leaves. *Mol Microbiol*, 51: 619-629.
- Haouala, R., Hawala, S., El-Ayeb, A., Khanfir, R. and Boughanmi, N. (2008): Aqueous and organic extracts of *Trigonella foenum-graecum* L. inhibit the mycelia growth of fungi. *J. Environ. Sci.* 20: 1453-1457.
- Haraszty, Á. (szerk.) (1978): Növénytársaság és növényélettan. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest.
- Harper, A.M., Strange, R.N. and Langcake, P. (1981): Characterisation of the nutrients required by *Botrytis cinerea* to infect broad bean leaves *In*: Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. and Delen, N. (eds.), *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. 2007 Springer, Dordrecht, pp. 9-27.
- Hengl, R. (1955): Wundreiz und Kallusbildung. *Winzer* 11, 207-210.
- Hegedűs, Á. (1966): A szőlő. Akadémiai Kiadó, Budapest.
- Hellman, E.W. (szerk.) (2003): Grapevine structure and function. Oregon Viticulture, Oregon State University, Corvallis.
- Hennebert, G. L., Groves, J. W. (1963): Three new species of *Botryotinia* in *Ranunculaceae*. *Canadian Journal of Botany*, 41: 341-373.
- Hochbaum T. és Nagy G. (2014): Illóolajok a gyümölcsösök néhány jelentős kórokozója elleni védelemben. *Biokultúra* 25 (1): 22-24.
- Holz, G., Coertze, S. and Williamson, B. (2007): The ecology of *Botrytis* on plant surfaces *In*: Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. and Delen, N. (eds.), *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. 2007 Springer, Dordrecht, pp. 9-27.
- Howard, R.J., Ferrari, M.A., Roach, D.H., and Money, N.P. (1991): Penetration of hard substrates by a fungus employing enormous turgor pressures. *Microbiology*, 88: 11281-11284.
- Imada, K., Tanaka, S., Ibaraki, Y., Yoshimura, K., Ito, S. (2014): Antifungal effect of 405-nm light on *Botrytis cinerea*. *Letters in Applied Microbiology* 59, 670-676.
- Internet 2: <https://www.google.com/maps>

- Jarvis, W.R. (1962): The dispersal of spores of *Botrytis cinerea* Fr. in a raspberry plantation *In: Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. and Delen, N. (eds.), Botrytis: Biology, Pathology and Control. 2007 Springer, Dordrecht, pp. 9-27.*
- Jarvis, W.R. (1980): Epidemiology. *In: Coley-Smith J.R., Verhoeff K. and Jarvis, W.R. (eds.), The Biology of Botrytis. Academic Press, London, UK, pp. 1-18.*
- Jin, P., Wang, H., Zhang, Y., Huang, Y., Wang, L., Zheng, Y.(2017): UV-C enhances resistance against gray mold decay caused by *Botrytis cinerea* in strawberry fruit. *Scientia Horticulturae* 225, 106-111.
- Johnson, K.B. and Powelson, M.L. (1983): Analysis of spore dispersal gradients of *Botrytis cinerea* and gray mold disease gradients in snap beans *In: Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. and Delen, N. (eds.), Botrytis: Biology, Pathology and Control. 2007 Springer, Dordrecht, pp. 9-27.*
- Jürges, G, Kassemeyer, H.-H., Durrenberger, M, Duggelin, M. and Nick, P. (2009): The mode of interaction between *Vitis* and *Plasmopara viticola* Berk. & Curt. Ex de Bary depends on the host species. *Plant Biology*, 11: 886–898.
- Kasmi, M., Aourach, M., El Boukari, M., Barrijal, S., Essalmani, H. (2017): Effectiveness of aqueous extracts of aromatic and medicinal plants against tomato grey mould in Morocco. *Comptes Rendus Biologies* 340: 386-393.
- Keller, M. (2010): *The Science of Grapevines: Anatomy and Physiology.* Elsevier, London, UK.
- Keskin, N., Kenter, B. (2008): Production of trans-resveratrol in 'Cabernet Sauvignon' (*Vitis vinifera* L.) callus culture in response to ultraviolet-C irradiation. *Vitis* 47 (4), 193–196.
- Keskin, N., Kenter, B. (2009): The Effects of Callus Age, UV Irradiation and Incubation Time on trans-Resveratrol Production in Grapevine Callus Culture. *Tarim Bilimleri Dergesi* 15(1) 9-13.
- Keskin, N., Kenter, B. (2010): Production of trans-resveratrol in callus tissue of Öküzgözü (*Vitis vinifera* L.) in response to ultraviolet-c irradiation. *The Journal of Animal and Plant Sciences* 20(3), 197-200.
- Klärner, S., Flemming, B., Berkelmann-Löhnertz, B. (2015): Studies on mould prevention in viticulture by means of UV-C application of vines (*Vitis vinifera* L.). *Landtechnik* 70(4), 139-148.
- Kocsis, L. (2010): Szőlőalanyok egyes fiziológiai jellemzőinek és biotikus tényezőinek értékelése. Doktori értekezés, MTA, Budapest.
- Kocsis, L., Bakonyi L. (1994): The valuation of the rootstock wood - fruiting wood interaction in hotroom callusing. *Horticultural Science* 26. 2. 61-64.

- Kozma P. (1991): A szőlő és termesztése I.-II. Akadémiai Kiadó, Budapest.
- Köse B, Çelik H, Karabulut B. (2015): Determination of callusing performance and vine sapling characteristics on different rootstocks of 'Merzifon Karası' grape variety (*Vitis vinifera* L.). *Anadolu Journal of Agricultural Sciences* 30:87-94.
- Kretschme M., Hahn M. (2008): Fungicide resistance and genetic diversity of *Botrytis cinerea* isolates from a vineyard in Germany. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 115 (5): 214–219.
- Kumari, S., Tayal, ÍPÍ., Sharma, E., Kapoor, R. (2014): Analyses of genetic and pathogenic variability among *Botrytis cinerea* isolates. *Microbiological Research* 169: 862-872.
- Lázár, J., Dula, Bné, Voigt, E., Szendrey, Lné, Makó, Sz. (2004): A szőlő védelme I. *Növényvédelem*, 40: 193-206.
- L.Farkas B., Kocsis L. (2013): Eco-friendly methods to control *Botrytis cinerea* infection during the production of propagating materials of grapevine. *Journal of Plant Pathology*. S1.78.
- Leach, C. M. (1971): A Practical Guide to the Effects of Visible and Ultraviolet Light on Fungi. In Booth, C. (ed) *Methodes in Microbiology*. Vol. IV. Academic Press, London & New York, 609-664.p.
- Lee, S.-H., Chang, K.-S., Su, M.S., Huang, Y.-S. and Jang, H.D. (2007): Effects of some Chinese medicinal plant extracts on five different fungi. *Food Contol*. 18: 1547-1554.
- Lenzian, K. J. (2006) Survival strategies of plants during secondary growth: barrier properties of phellements and lenticels towards water, oxygen, and carbon dioxide. *Journal of Experimental Botany*, 57, 2535-2546.
- Liu, W. T. & Chu, C. L. (2002): Thymol and Acetic Acid Vapors Reduce Postharvest Brown Rot of Apricots and Plums. *HortScience* 37(1): 151-156.
- Louis, C., Girard, M., Kuhl, G. and Lopez-Ferber, M. (1996): Persistence of *Botrytis cinerea* in its vector *Drosophila melanogaster*. *Phytopathology*, 86: 934-939.
- Lurie, S. (1998): Postharvest heat treatments. Review. *Postharvest Biology and Technology* 14: 257-269.
- Marois, J. J., Nelson, J. K., Morrison, J. C., Lile, L. S. and Bledsoe, A. M. (1986): The Influence of Berry Contact within Grape Clusters on the Development of *Botrytis cinerea* and Epicuticular Wax. *Am. J. Enol. Vitic*, 37: 293-296.
- Staats, M., van Baarlen, P. and Jan A. L. van Kan (2005): Molecular Phylogeny of the Plant Pathogenic Genus *Botrytis* and the Evolution of Host Specificity. *Molecular Biology and Evolution* vol. 22: 333-346.

- Marwa, C., Fikri-Benbrahim, K., Ou-Yahia, D., Farah, A. (2017): Chemical composition and antimicrobial properties of *Mentha piperita* essential oil. *Journal of advanced pharmaceutical technology and research*, 8(3):86-90.
- McNicol, R.J. and Williamson, B. (1989): Systematic infection of black currant flowers by *Botrytis cinerea* and its involvement in premature abscission of fruits. *In: Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. and Delen, N. (eds.), Botrytis: Biology, Pathology and Control*. 2007 Springer, Dordrecht, pp. 9-27.
- Mendgen, K., Hahn, M. and Deising, H. (1996): Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. *In: Van Kan, J.A.L., Infection strategies of Botrytis cinerea*. *Acta Hort.* 669: 77-90.
- Mlikota Gabler, F., L. Smilanick, J., Mansour, M., Ramming, D.W. and Mackey, B.E. (2003): Correlation of morphological, anatomical and chemical features of grape berries with resistance to *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, 93: 1263-1273.
- Mondy, N., Pracros, P., Fermaud, M., Corio-Costet, M-F. (1998): Olfactory and gustatory behaviour by larvae of *Lobesia botrana* in response to *Botrytis cinerea*. *Entom. Experim. et Applicata* 88:1-7.
- Nagehan Desen K., Nuray Ö., Nafiz D. (2012): Sensitivity of *Botrytis cinerea* isolates against some fungicides used in vineyards. *African Journal of Biotechnology*. 11(8): 1892-1899.
- Nagy, P. (2003): A fény és a kisfrekvenciás elektromágneses terek hatása mikroszkópikus gombákra. Doktori (PhD) értekezés. Veszprémi Egyetem Georgikon Mezőgazdaságtudományi Kar, Keszthely.
- Nakajima, M. and Akutsu, K. (2014): Virulence factors of *Botrytis cinerea*. *J Gen Plant Pathol*, 80: 15-23.
- Németh, M. (1967): Ampelográfiai album. Termesztett borszőlőfajták 1. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- Németh, M. (1970): Ampelográfiai album. Termesztett borszőlőfajták 2. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- Németh, M. (1975): Ampelográfiai album. Alany-, direkt termő és csemegeszőlő-fajták. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- Nigro, F., Ippolito, A., Lima, G. (1998): Use of UV-C light to reduce *Botrytis storage* rot of table grapes. *Postharvest Biology and Technology*. 13: 171-181.
- Nigro, F., Ippolito, A., Lattanzio, V., Di Venere, D. & Salerno, M. (2000): Effect of ultraviolet-C light on postharvest decay of strawberry. *Journal of Plant Pathology*, 82 (1): 29-37.
- Növényvédő szerek, termésmenvelő anyagok (1998): Agrinex Bt., Budapest.

- OIV (2018): OIV Statistical Report on World Vitiviniculture. <http://www.oiv.int/public/medias/6371/oiv-statistical-report-on-world-vitiviniculture-2018.pdf>
- Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z. and Naghdibardi, H. (2007): Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control*. 18: 1518-1523.
- Özcan, M. and Boyraz, N. (2000): Antifungal properties of some herb decoctions. *Eur. Food Res. Technol.* 212: 86-88.
- Padgett, M. and Morrison J.C. (1990): Changes in Grape Berry Exudates during Fruit Development and Their Effect on Mycelial Growth of *Botrytis cinerea*. *J. AMER. Soc. HORT. SCI.* 115(2): 269-273.
- Peakall, R., Smouse, P. E. (2012): GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics* 28, 2537-2539.
- Pinto, E., Salgueiro, L. R., Cavaleiro, C., Palmeira, A., Goncalves, M. J. (2007): *In vitro* susceptibility of some species of yeasts and filamentous fungi to essential oils of *Salvia officinalis*. *Industrial Crops and Products* 26(2) 135-141.
- Pongrácz, D.P. (1978): Practical viticulture. David Philip Publisher, Cape Town, South Africa.
- Pratt, C. (1974): Vegetative anatomy of cultivated grapes - A review. *Am J Enol Vitic* 25:131–150.
- Prins, T.W., Tudzynski, P., Von Tiedemann, A., Tudzynski, B., Ten Have, A., Hansen, M.E., Tenberge, K. and Van Kan, J.A.L. (2000): Infection strategies of *Botrytis cinerea* and related necrotrophic pathogens *In: Van Kan, J.A.L., Infection strategies of Botrytis cinerea*. *Acta Hort.* 669: 77-90.
- R Core Team (2017): R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>.
- Rácz, G., Rácz-Kotilla, E., Szabó, L. Gy. (1992): Gyógynövényismeret – a fitoterápia alapjai. Sanitas Természetgyógyászati Alapítvány, Budapest.
- Rápóti, J., Romváry, V. (1980): Gyógyító növények. Medicina Könyvkiadó, Budapest.
- Riaz, S., Pap, D., Uretsky, J., Laucou, V., Boursiquot, J.-M., Kocsis, L., Walker, M. A. (2019): Genetic diversity and parentage analysis of grape rootstocks. *Theoretical and Applied Genetics*. URL: <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03320-5>.
- Ribereau-Gayon, J. - Peynaud, E. (1971): Sciences et techniques de la vigne. I. Biologie de la vigne. Sols de vignobles. Ed. Dunod, Paris.

- Romanazzi, G., Lichter, A., Mlikota Gabler, F., S. Smilanick, J. (2011): Recent advances on the use of natural and safe alternatives to conventional methods to control postharvest gray mold of table grapes. *Postharvest Biology and Technology* 63, 141-147.
- Roussel, C. - Bouard, J. (1970): La pourriture grise. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 4. (2) 145-158.
- Rügner, A., Rumbolz, J., Huber, B., Bleyer, G., Gisi, U., Kassemeyer, H.-H. and Guggenheim, R. (2002): Formation of overwintering structures of *Uncinula necator* and colonization of grapevine under field conditions. *Plant Pathology*, 51: 322-330.
- Sahai, H. and Ageel, M.I. (2000): *The Analysis of Variance: Fixed, Random and Mixed Models*. Birkhäuser, Boston.
- Salinas, J. (1992): Function of cutinolytic enzymes in the infection of gerbera flowers by *Botrytis cinerea*. In: Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. and Delen, N. (eds.), *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. 2007 Springer, Dordrecht, pp. 67-84.
- Salinas, J. and Verhoeff, K. (1995): Microscopical studies of the infection of gerbera flowers by *Botrytis cinerea*. In: Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. and Delen, N. (eds.), *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. 2007 Springer, Dordrecht, pp. 67-84.
- Sarig, P., Zutkhi, Y., Lisker, N., Shkelerman, Y. and Ben-Arie, R. (1998): Natural and induced resistance of table grapes to bunch rots. *Acta Hort.*, 464: 65-70
- Schenk, H. (1893): Beiträge zur Anatomie der Lianen; in Schimper: *Botanische Mitteilungen aus den Tropen*. 5. Fischer, Jena 137-138 p.
- Schenk, W. (1955): Die Verwachsungsvorgänge bei Pfropfreben. *Deutsche Weinbau* 10, 265-268.
- Schenk, W. (1976): Einfluss der Dorsiventralität und Polarität auf die Kallusbildung und Verwachsung der Pfropfreben, insbesondere im Hinblick auf die Maschinenveredlung. *Weinberg und Keller* 23:13-36.
- Schumacher, J. (2017): How light affects the life of *Botrytis*. *Fungal Genetics and Biology* 106, 26-41.
- Seeliger R. (1927): Über einen Weg zur Erhöhung der Anwachsprozente und zur qualitativen Verbesserung der Pfropflinge bei der Rebenveredlung. *Weinbau und Kellerwirtschaft* 6:1-4.
- Sesan, T. E., Enache, E., Iacomi, B. M., Oprea, M., Oancea, F., Iacomi, C. (2015): *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus* 14(1): 29-43.
- Seu, A., Batra, A. (2012): Evaluation of microbial activity of different solvent extracts of medicinal plant: *Melia azedarach*. *Int. J. Curr. Pharmaceu. Res.* 4 (2): 67-73.

- Shabana, Y. M., El-Boray, M. S. S., Mustafa, M. F. M., Al-Juboori, G. A. M. (2015): J. Plant Prot. and Path., Mansoura Univ. 6(9): 1297–1311.
- Shiraishi, M., Chijiwa, H., Fujishima, H., Muramoto, K. (2010): Resveratrol production of grape flowers and green berries to screen genotypes for gray mold and powdery mildew resistance. Euphytica 176: 371-381.
- Sholberg, P. L., Gaunce, A. P. (1995): Fumigation of fruit with acetic acid to prevent postharvest decay. Hort.Science. 30 (6): 1271-1275.
- Sprent, P. and Smeeton, N.C. (2000): Applied Nonparametric Statistical Methods, Chapman and Hall/CRC.
- Stellwaag-Kittler, F. (1969): Möglichkeiten der Botrytisbekämpfung an Trauben unter Berücksichtigung der epidemiologischen Grundlagen. Wein. u Keller, 16. 109-134.
- Sullivan-Brown, J., Bisher, M. E. and Burdine, R. D. (2011): Embedding, serial sectioning and staining of zebrafish embryos using JB-4TM resin. Nat Protoc. 6(1): 46-55.
- Takayama, C., Meira de-Faria, F., Alves de Almeida, A. C., Dunder, R. J., Manzo, L. P., Socca, E. A. R., Batista, L. M., Salvador, M. J., Souza-Brito, A. R. M., Luiz-Ferreira, A. (2016): Chemical composition of Rosmarinus officinalis essential oil and antioxidant action against gastric damage induced by absolute ethanol in the rat. Asian Pac J Trop Biomed, 6(8): 677-681.
- Tenberge, K.B., Beckedorf, M., Hoppe, B., Schouten, A., Solf, M., and Von den Driesch, M. (2002): *In situ* localization of AOS in host-pathogen interactions. In: Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. and Delen, N. (eds.), *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. 2007 Springer, Dordrecht, pp. 67-84.
- Topolovec-Pintari S. (2009): Resistance risk to new botryticides in *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. in winegrowing areas in Croatia. Journal of Plant Diseases and Protection. 116 (2): 73–77.
- Urbasch, I. (1985): Dedifferenzierung der Appressorien von *Botrytis cinerea* Pers. unter Bildung von Mikrokonidien-Relation zur Resistenz von *Lycopersicon* spp. gegen *B. cinerea*. Phytopathol. Z., 113: 348-358.
- Váczy, K. Z. (2009): *Botrytis cinerea* populációk vizsgálata az egri borvidéken. Doktori értekezés, Debreceni Egyetem.
- Van den Heuvel, J. (1981): Effect of inoculum composition on infection of French bean leaves by conidia of *Botrytis cinerea*. Netherlands Journal of Plant Pathology, 87: 55-64.
- Van den Heuvel, J. and Waterreus, L.P. (1983): Conidial concentration as an important factor determining the type of prepenetration structures formed by *Botrytis cinerea* on leaves of French bean (*Phaseolus vulgaris*). Plant Pathology, 32: 236-272.

- Van der Vlugt-Bergmans, C.J.B., Wagemakers, C.A.M. and Van Kan, J.A.L. (1997): Cloning and expression of the cutinase A gene of *Botrytis cinerea*. In: Van Kan, J.A.L., Infection strategies of *Botrytis cinerea*. Acta Hort. 669: 77-90.
- van Kan J. A. L., Van't Klooster, J.W., Wagemakers, C.A. Dees, D.C. and Van der Vlugt-Bergmans, C.J. (1997): Cutinase A of *Botrytis cinerea* is expressed, but not essential, during penetration of gerbera and tomato. Mol Plant Microbe Interact, 10: 30-38.
- van Kan, J. A. L. (2005): Infection strategies of *Botrytis cinerea*. Acta Hort. 669: 77-90.
- van Kan, J.A.L. (2006): Licensed to kill: the lifestyle of a necrotrophic plant pathogen. Review. TRENDS in Plants Science. Vol. 11 No. 5.
- Varga-Haszonits, Z. (1987): Agrometeorológiai információk és hasznosításuk. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- Vercesi, A. and Bisiach, M. (1982): Indagine sulla fluttuazione del potenziale d'inoculo di *Botrytis cinerea* Pers. in vigneto. Rivista di Patologia Vegetale, 18: 13-48.
- Verhoeff, K. (1970): Spotting of tomato fruits caused by *Botrytis cinerea*. Netherlands Journal of Plant Pathology, 76: 219-226.
- Walker, A. S., Gautier, A., Confais, J., Martinho, D., Viaud, M., Le Pêcheur, P., Dupont, J., Fournier, E. (2011): *Botrytis pseudocinerea*, a new cryptic species causing gray mold in French vineyards is sympatry with *Botrytis cinerea*. Phytopathology. 12: 1433-45.
- Widmer, T. L., Laurent, N. (2006): Plant extracts containing caffeic acid and rosmarinic acid inhibit zoospore germination of *Phytophthora* spp. pathogenic to *Theobroma cacao*. European Journal of Plant Pathology 115: 377.
- Williamson, B., Duncan, G.H., Harrison, J.G., Harding, L.A., Elad, Y. and Zimand, G. (1995): Effect of humidity on infection of rose petals by dry-inoculated conidia of *Botrytis cinerea*. Mycological Research, 99: 1303-1310.
- Wilson, C.L., Solar, J.M., El Ghaouth, A. and Wisniewski, M.E. (1997): Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. Plant Dis. 81: 204-210.
- Wszelaki A. L., Mitcham, E. J. (2003): Effect of combinations of hot water dips, biological control and controlled atmospheres for control of gray mold on harvested strawberries. Postharvest Biology and Technology. 27: 255-264.
- Yin, M.C., Tsao, S.M. (1999): Inhibitory effect of seven *Allium* plants upon three *Aspergillus* species. Int. J. Food Microb. 49: 49-56.
- Yunis, H., Elad, Y. (1989): Survival of *Botrytis cinerea* in plant debris during summer in Israel. Phytoparasitica, 17: 13-21.

11 MELLÉKLETEK

1. melléklet. Alanyfajták kalluszfajlódást befolyásoló szöveti jellemzők szerinti osztályozása Schenk (1976) rendszere alapján.

Ssz.	Fajta neve	Fa/bél arány	Bél- sugarak száma	Élő kéreg/fás szövet arányaival kapcsolatos osztályozás			
				levél- oldal	kacs- oldal	hónalj- hajtás- oldal	téli rügy- oldal
1.	Alháros	1 : 1.05	44	++++	+++	++++	+++
2.	Dorgó 1805	1 : 1.25	49	+++	++	+++	++
3.	Kober 5BB	1 : 1.65	46	+++	+++	+++	++
4.	Teleki 5C	1 : 1.08	41	+++	++	+++	++
5.	Couderc 161-49	1 : 0.48	34	+++	+++	+++	+++
6.	B × R CR26	1 : 1.16	41	+++	+++	+++	++
7.	Paulsen	1 : 0.66	36	+++	++	+++	++
8.	Grand glabre	1 : 1.09	46	++	++	+++	+++
9.	Riparia × Rupestris 3303C	1 : 0.85	38	+++	++	+++	++
10.	<i>V. rupestris</i> Forthworth	1 : 1.15	44	++	++	++	++
11.	Rup. Martin	1 : 0.88	40	++	++	++	+
12.	Couderc 1616 Male	1 : 0.44	34	+++	++	+++	++
13.	Ganzin 1	1 : 0.40	38	+++	++	+++	++
14.	Georgikon 28	1 : 1.25	47	++++	++	+++	++
15.	Fercal	1 : 1.17	38	+++	++	++++	++
16.	Baco Noir	1 : 1.67	45	+++	++	++++	++

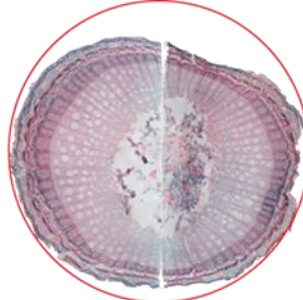
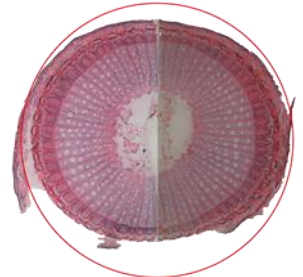
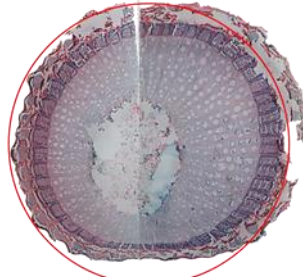
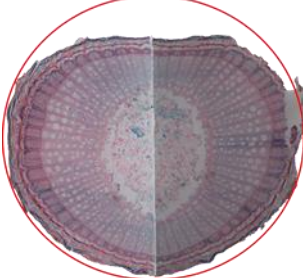
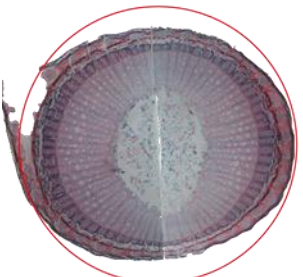
2. melléklet. A szőlővesszők anatómiai jellemzésekor vizsgált fajták és származásuk (Kocsis, szóbeli közlés; Riaz *et al.*, 2019)

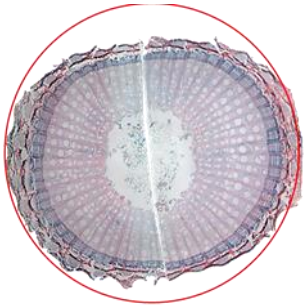
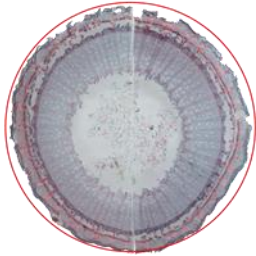
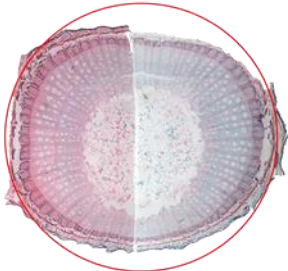
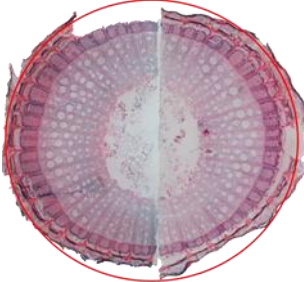
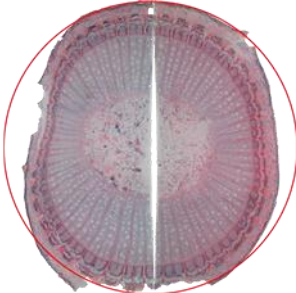
	Szőlőfajta	Származás
1.	Alháros	<i>V. sylvestris</i>
2.	Kober 5BB	Rességuier 2 × Gloire de Montpellier
3.	Teleki 5C	Rességuier 2 × Gloire de Montpellier
4.	Couderc 161-49	<i>V. berlandieri</i> × Gloire de Montpellier
5.	Paulsen 1103	Rességuier 2 × du Lot
6.	Grand glabre	<i>V. riparia</i>
7.	Riparia × Rupestris 3303C	<i>V. berlandieri</i> × <i>V. rupestris</i>
8.	<i>V. rupestris</i> Forthworth	<i>V. rupestris</i>
9.	Couderc 1616 Male	<i>V. solonis</i> × <i>V. riparia</i>
10.	Ganzin 1	Aramon Noir × Ganzin
11.	Georgikon 28	Komplex hibrid
12.	Fercal	Colombard 1 B (Lafont 9 × Trebbiano Toscano) × Richter 31 (Rességuier 2 × Novo Mexicana ((<i>V. riparia</i> × <i>V. rupestris</i>) × <i>V. candicans</i>))
13.	Baco Noir	Folle Blanche × <i>V. riparia</i> Grand glabre
14.	Börner	Geisenheim 183 × Arnold
15.	Résseguier 1	<i>V. berlandieri</i>
16.	Merlot	<i>V. vinifera</i>
17.	Cabernet Sauvignon	<i>V. vinifera</i>
18.	Chardonnay	<i>V. vinifera</i>
19.	Sauvignon blanc	<i>V. vinifera</i>
20.	Pinot noir	<i>V. vinifera</i>

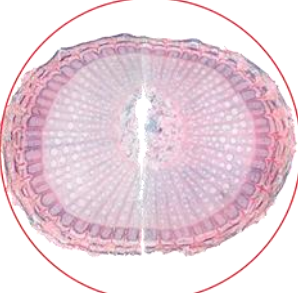
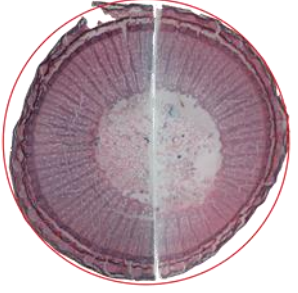
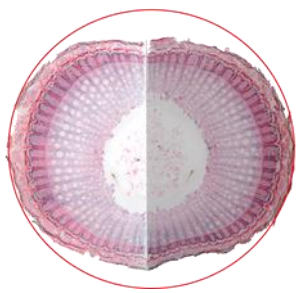
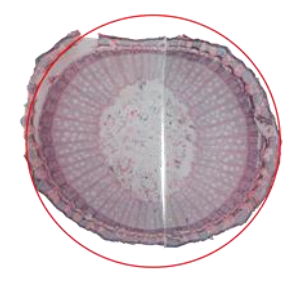
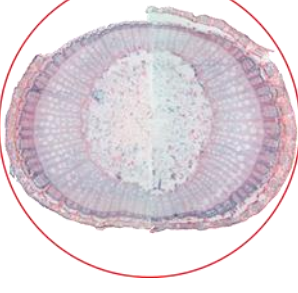
3. melléklet. A *Botrytis cinerea* izolátumokra vonatkozó adatok

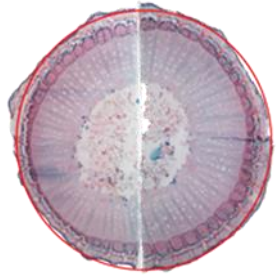
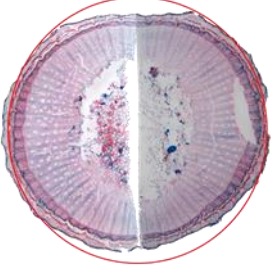
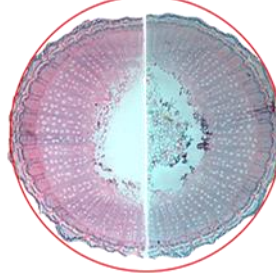
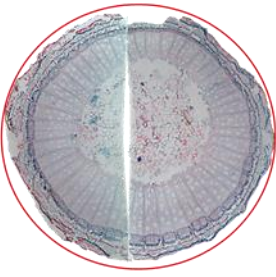
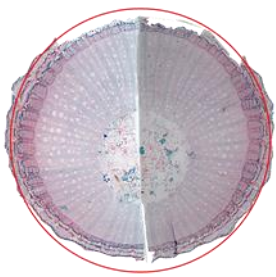
Minta	Termőhely	Szőlőfajta	Vizsgálat jellege	
			molek.	morf.
1.	Sopron	-	molek.	morf.
2.	Sopron	-	molek.	-
3.	Katonatelep	-	molek.	morf.
4.	Szekszárdi	Merlot	molek.	morf.
5.	Szekszárd	-	molek.	-
7.	Tokaj	-	molek.	morf.
8.	Bócsa	-	molek.	-
9.	Aldebrő	Hárslevelű	molek.	-
10.	Aldebrő	Cabernet franc	molek.	-
11.	Aldebrő	Cabernet sauvignon	molek.	morf.
12.	Zalaapáti	-	molek.	-
13.	Cserszegtomaj	-	molek.	-
14.	Cserszegtomaj	-	molek.	-
15.	Cserszegtomaj	Francia fajták (?)	molek.	morf
16.	Keszthely	-	molek.	-
17.	Keszthely	-	molek.	morf
18.	Keszthely	-	molek.	-
19.	Badacsony	Olaszrizling 6	molek.	morf.
20.	Badacsony	Kéknyelű	molek.	morf.
21.	Badacsony	Pinot noir	molek.	morf.
22.	Badacsony	Sauvignon blanc	molek.	morf.
23.	Badacsony	Szürkebarát	molek.	morf.
24.	Badacsony	Olaszrizling 1	molek.	morf.
25.	Badacsony	Cabernet sauvignon	molek.	morf.
26.	Chindrieux, Franciaország	-	molek.	morf.

4. melléklet. Szőlőfajták jellemzése

1.	<p>Fajta neve: Alháros / Szárm.: <i>V. sylvestris</i> Bélsug.szám: 45 Fa/bél-arány: 1/0.66 Vessző alakja: lapított kör; nyolcszög (xylem) Xylem jellemzői: A kezdetben fejlődött tracheák kisebb méretűek, a későbbiek nagy átmérővel rendelkeznek, méretük fokozatosan növekszik. Nyalábok belül szétszórt elhelyezkedésűek. A téli rügy és kacs oldalon kisebb számú és méretű trachea található.</p>	
2.	<p>Fajta neve: Baco noir / Szárm.: Folle Blanche × <i>V. riparia</i> Grand glabre Bélsug.szám: 36 Fa/bél-arány: 1/0.56 Vessző alakja: lapított kör Xylem jellemzői: A kezdetben fejlődő tracheák mérete kisebb. Elhelyezkedésük a nyalábokon belül szabályos, sugárirányú. A téli rügy, illetve a kacs oldalon méretük kisebb a keresztmetszet többi nyalábjához viszonyítva, a szabályos mintázottság megmarad.</p>	
3.	<p>Fajta neve: Résseguier / Szárm.: <i>V. berlandieri</i> Bélsug.szám: 35 Fa/bél-arány: 1/0.68 Vessző alakja: Kör Xylem jellemzői: Kezdetben fejlődött tracheák kisebb méretűek a későbbiekhez viszonyítva, azonban a többi fajtához képest a nagyméretű tracheák aránya magasabb. Elhelyezkedésük szabályos, sugár irányú, de nyalábokon belül rendezettség nem figyelhető meg. A téli rügy oldalon a többi fajtához hasonlóan a tracheák száma és mérete kisebb, viszont ez a tulajdonság a kacs oldalon nem figyelhető meg.</p>	
4.	<p>Fajta neve: Couderc 161-49 / Szárm.: <i>V. berlandieri</i> × Gloire de Montpellier Bélsug.szám: 49 Fa/bél-arány: 1/0.93 Vessző alakja: lapított kör, szív, ötszög (xylem) Xylem jellemzői: Tracheák mérete kezdeti fejlődés során apró, majd rövid átmenettel nagy átmérőjűek. Nyalábokon belül sugárirányba rendeződnek. Másodlagos nyalábok ketté osztják őket, szabályozottság megmarad. Téli rügy és kacs oldalon a trachea-méret kicsi, ami a többi fajtához képest jóval szélesebb sávban, több nyalábokon keresztül figyelhető meg. Nyalábokon belüli tracheaszám hasonló.</p>	
5.	<p>Fajta neve: Riparia × Rupestris 3303C / Szárm.: <i>V. berlandieri</i> × <i>V. rupestris</i> Bélsug.szám: 38 Fa/bél-arány: 1/0.90 Vessző alakja: kissé lapított kör Xylem jellemzői: A kezdetben fejlődött tracheák kisebb méretűek, majd a vegetáció végén fejlődötték mérete ismét csökken. A nagyméretű tracheák aránya alacsony, sugárirányú, nyalábokon belül nem szabályos. A téli rügy oldal jellemzően kisebb számú és méretű tracheát tartalmaz, ami a kacs oldalánál nem annyira kifejezett, bár méretbeli különbség ott is felfedezhető. A tracheák elhelyezkedése sugárirányú, nyalábokon belül nem szabályos.</p>	

6.	<p>Fajta neve: Paulsen 1103 / Szárm.: Résseguier 2 × du Lot Bélsug.száma: 31 Fa/bél-arány: 1/0.66 Vessző alakja: Lapított kör, hatszög (xylem) Xylem jellemzői: Kezdetben fejlődött tracheák mérete kisebb a később képződött tracheákhoz képest. Elhelyezkedésük szabályos, sugár irányú. A téli rügy és kacs oldalon tracheák mérete kisebb, de nem olyan mértékű a különbség, mint a többi fajtánál. A tracheáknál koncentrikus szabályosság is megfigyelhető.</p>	
7.	<p>Fajta neve: V. rupestris Forthworth / Szárm.: <i>V. rupestris</i> Bélsug.száma: 41 Fa/bél-arány: 1/1.32 Vessző alakja: Kör Xylem jellemzői: Először nagyobb, majd a vegetáció folyamán egyre kisebb tracheák fejlődése figyelhető meg. Elhelyezkedésük nem szabályos. A többi fajtával összehasonlítva a téli rügy, illetve kacs oldalon a levél és hónaljajtás oldalhoz képest szignifikáns különbség nem figyelhető meg.</p>	
8.	<p>Fajta neve: Teleki 5C / Szárm.: Rességuier 2 × Gloire de Montpellier Bélsug.száma: 47 Fa/bél-arány: 1/1.20 Vessző alakja: Lapított Xylem jellemzői: Eleinte kisebb méretű tracheák alakultak ki, majd méretük fokozatosan nőtt. Elhelyezkedésük sugárirányú, nyalábokon belül nem minden esetben szabályos. Téli rügy oldalon tracheák mérete kisebb, közel azonos. Kacs oldalon méretük jóval kisebb.</p>	
9.	<p>Fajta neve: Kober 5BB / Szárm.: Rességuier 2 × Gloire de Montpellier Bélsug.száma: 32 Fa/bél-arány: 1/0.70 Vessző alakja: Enyhén lapított kör Xylem jellemzői: A kezdetben fejlődött tracheák kisebbek, majd méretük jelentősen nő. A legkésőbb képződött tracheák mérete ismét kisebb. Elhelyezkedésük sugárirányú, nem szabályos. Koncentrikus rendezettség megfigyelhető, főként a levél és hónaljajtás oldalon, ahol inkább megtalálhatók a nagy átmérővel rendelkező vízszállító csövek. A téli rügy oldalon a tracheák száma és mérete csökken a levél és hónaljajtás oldalhoz viszonyítva, nyalábok belül közel azonos méretűek. A kacs oldalon ilyen nagy különbség nem figyelhető meg.</p>	
10.	<p>Fajta neve: Grand glabre / Szárm.: <i>V. riparia</i> Bélsug.száma: 46 Fa/bél-arány: 1/0.84 Vessző alakja: lapított kör Xylem jellemzői: Az eleinte fejlődött tracheák igen aprók, majd méretük fokozatosan növekszik, végül ismét csökken. Bélsugarak hangsúlyosak. Nyalábok szélesek. Másodlagos vastagodás jól megfigyelhető. Tracheák száma nagy, elhelyezkedésük sűrű, nyalábokon belül sugárirányú, nem szabályos. Téli rügy oldalon méretük és számuk szignifikánsan kisebb, ami a kacs oldalon is megfigyelhető a tracheák méretével kapcsolatban. A nagyméretű tracheáknál koncentrikus szabályosság vehető észre.</p>	

11.	<p>Fajta neve: Couderc 1616 Male / Szárm.: <i>V. solonis</i> × <i>V. riparia</i> Bélsug.száma: 32 Fa/bél-arány: 1 : 0.49 Vessző alakja: erősen lapított Xylem jellemzői: Kezdetben fejlődött tracheák mérete kicsi, később nagy, ami különösen a levél és a hónaljajtás oldalra jellemző. Elhelyezkedésük sugárirányú, nem szabályos. Téli rügy oldalon a tracheák száma és mérete, míg a kacs oldalon csak a méret csökken. Nyalábok szélesek, a másodlagos bélsugarak jól láthatók.</p>	
12.	<p>Fajta neve: Ganzin 1 / Származása: Aramon Noir × Ganzin Bélsug.száma: 43 Fa/bél-arány: 1 : 1.02 Vessző alakja: enyhén lapított kör Xylem jellemzői: A nyalábokon belül a tracheák mérete hasonlóan apró. Elhelyezkedésük szabályos, sugár irányú. Téli rügy oldalon elhelyezkedő 4 nyalábon belül a tracheák száma feltűnően alacsony, méretük szignifikánsan kisebb a keresztmetszet többi területéhez viszonyítva.</p>	
13.	<p>Fajta neve: Börner / Szárm.: Geisenheim 183 × Arnold Bélsug.száma: 45 Fa/bél-arány: 1/0.93 Vessző alakja: Lapított kör Xylem jellemzői: Kezdetben fejlődő tracheák igen aprók, majd méretük fokozatos átmenettel növekszik. Mintázottságuk szabályos, sugárirányú. Téli rügy és kacsoldalon a tracheák mérete, száma, rendezettsége csökken.</p>	
14.	<p>Fajta neve: Fercal / Szárm.: Colombard 1 B (Lafont 9 × Trebbiano Toscano) × Richter 31 (Rességuier 2 × Novo Mexicana ((<i>V. riparia</i> × <i>V. rupestris</i>) × <i>V. candicans</i>)) Bélsug.száma: 45 Fa/bél-arány: 1/1.10 Vessző alakja: Lapított kör Xylem jellemzői: Először fejlődött tracheák kisebb, míg a később fejlődöttek nagyobb átmérővel rendelkeznek. Elhelyezkedésük sugárirányú, nem szabályos. Téli rügy oldalon (különösen 4 nyalábban) és a szemben elhelyezkedő kacs oldalon a tracheák mérete szignifikánsan kisebb a levél és hónaljajtáshoz viszonyítva.</p>	
15.	<p>Fajta neve: Georgikon 28 / Származása: Komplex hibrid Bélsug.száma: 54 Fa/bél-arány: 1/1.35 Vessző alakja: erősen lapított Xylem jellemzői: Az először fejlődött tracheák méretben elmaradnak a később fejlődöttektől, azonban a nagy átmérővel rendelkező tracheák száma jóval alacsonyabb a többi fajta hasonló paramétereire viszonyítva. Elhelyezkedésük szabályos, sugárirányú. Téli rügy és kacs oldalon a tracheák mérete és száma kisebb a másik két oldalhoz képest.</p>	

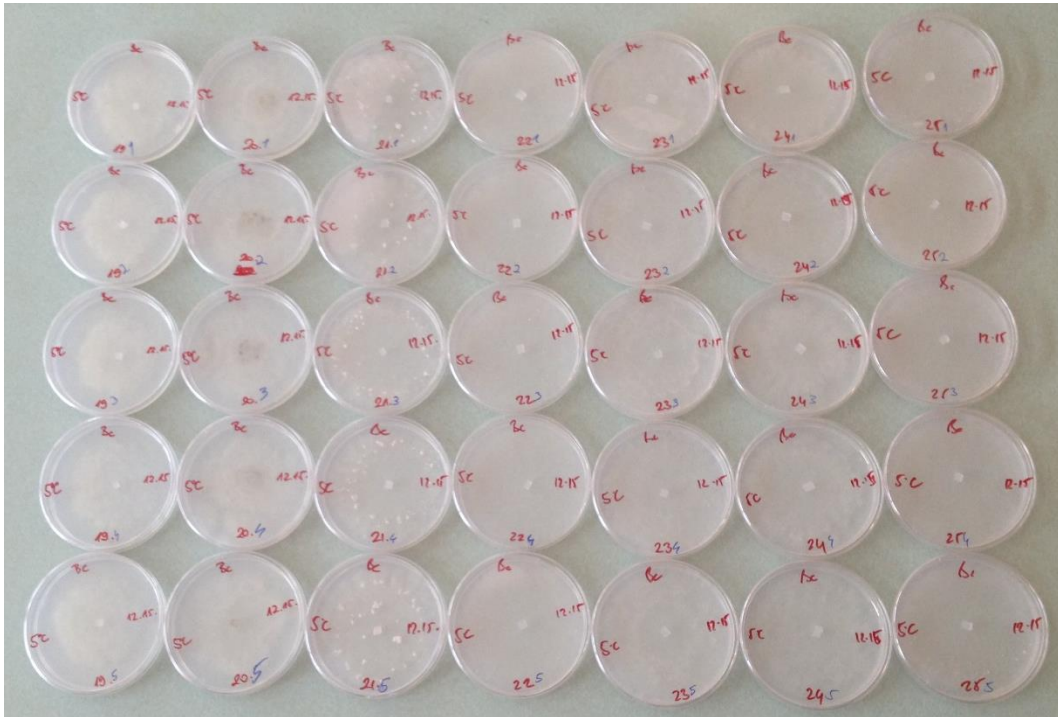
16.	<p>Fajta neve: Cabernet sauvignon / Származása: <i>V. vinifera</i> Bélsug.száma: 44 Fa/bél-arány: 1/0.93 Vessző alakja: kör Xylem jellemzői: A teljes keresztmetszeten belül hasonló, kisméretű tracheák találhatóak. Nagyon nagyok szétszórva, a levél és hónaljajtás oldalán, főként a vastagodás második szakaszában fejlődve láthatók. A téli rügy oldalán a tracheák mérete jóval kisebb a keresztmetszet többi területéhez viszonyítva, a vastagodás második szakaszában szinte eltűnnek. A kacs oldalán méretük a teljes fejlődés során hasonló. A levél és hónaljajtás oldalán a többi fajtához hasonlóan a tracheák kezdeti kisebb mérete után nagyobbak fejlődnek, azonban a méretbeli különbség nem annyira szembetűnő. Elhelyezkedésük nem szabályos.</p>	
17.	<p>Fajta neve: Chardonnay / Szárm.: <i>V. vinifera</i> Bélsug.száma: 40 Fa/bél-arány: 1/1.05 Vessző alakja: enyhén lapított kör Xylem jellemzői: A kezdetben fejlődött tracheák kisebbek a később képződötteknél, azonban a különbség nem túl szembetűnő, valamint csupán a levél és hónaljajtás oldalra jellemző. A téli rügy és kacs oldalán a tracheák mérete szignifikánsan lecsökken, szinte eltűnnek. A tracheák elhelyezkedése sugárirányú, nem szabályos.</p>	
18.	<p>Fajta neve: Merlot / Származása: <i>V. vinifera</i> Bélsug.száma: 48 Fa/bél-arány: 1/1.07 Vessző alakja: Enyhén lapított kör Xylem jellemzői: A tracheák mérete a vastagodás alatt közel azonos, a levél és hónaljajtás oldalán a később fejlődött szállító csövek kissé nagyobbak. A téli rügy és kacs oldalán a tracheák mérete lecsökken, előbbin szinte eltűnnek. Elhelyezkedésük sugárirányú, szabálytalan.</p>	
19.	<p>Fajta neve: Pinot noir / Származása: <i>V. vinifera</i> Bélsug.száma: 41 Fa/bél-arány: 1/1.19 Vessző alakja: Kör, négyzet (xylem) Xylem jellemzői: A vastagodás során képződött tracheák mérete szignifikánsan nem különbözik, csupán kissé a kacs oldalán figyelhető meg nagyobb csövek. A téli rügy oldalán a tracheák számának és méretének kismértékű csökkenése figyelhető meg.</p>	
20.	<p>Fajta neve: Sauvignon blanc / Származása: <i>V. vinifera</i> Bélsug.száma: 31 Fa/bél-arány: 1/0.62 Vessző alakja: kör Xylem jellemzői: Először kisméretű, később nagyobb tracheák képződnek a vastagodás során, ami a levél és a hónaljajtás oldalán figyelhető meg. A téli rügy oldalán a tracheák mérete lecsökken, számuk nem változik. Elhelyezkedésük sugárirányú, nem szabályos.</p>	

5. melléklet: Szőlővesszők fa/bél arányának és bélsugarak számának értékei 2013, 2014 és 2016 évben.

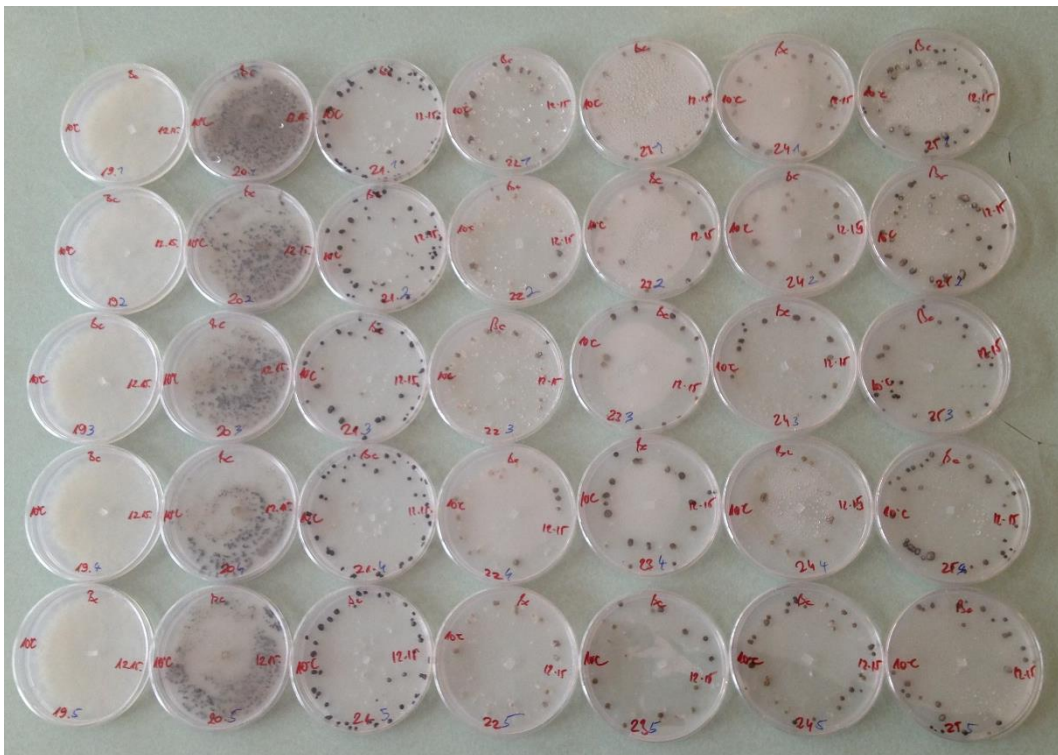
Fajta	fa/bél 2013	Bélsugarak száma 2013	fa/bél 2014	Bélsugarak száma 2014	fa/bél 2016	Bélsugarak száma 2016	fa/bél 3 év átlaga	bélsugarak száma 3 év átlaga
Alháros	94,00	44	153,00	45	119,00	78	122	56
Aramon Ganzin 1	244,00	38	97,00	43	276,00	75	206	52
Baco Noir	61,00	45	177,00	36	154,00	69	131	50
Berl. x Rip. 161-49	208,00	34	106,00	49	89,00	68	134	50
Fercal	85,00	38	90,00	45	132,00	75	102	53
Georgikon 28	80,00	47	74,00	54	81,00	84	78	62
Paulsen 1103	160,00	36	152,00	31	120,00	71	144	46
Rip. x Rup. 3303C	118,00	38	111,00	38	129,00	67	119	48
Rip. x Rup. Grand glabre	91,00	46	119,00	46	158,00	83	123	58
Solonis Riparia 1616	229,00	34	200,00	32	155,00	59	195	42
Teleki 5BB	61,00	46	141,00	32	93,00	87	98	55
Teleki 5C	92,00	41	83,00	47	104,00	84	93	57
Vitis Rup. Forthworth	87,00	44	74,00	41	48,00	93	70	59
<i>Szórás</i>	<i>64,28</i>	<i>4,74</i>	<i>40,30</i>	<i>7,21</i>	<i>55,00</i>	<i>9,62</i>	<i>40,17</i>	<i>5,77</i>
<i>Korrelációs együtthető</i>	<i>-0,80</i>		<i>-0,71</i>		<i>-0,40</i>		<i>-0,71</i>	

6. melléklet: *Botrytis cinerea* izolátumok fejlődése eltérő környezeti körülmények között

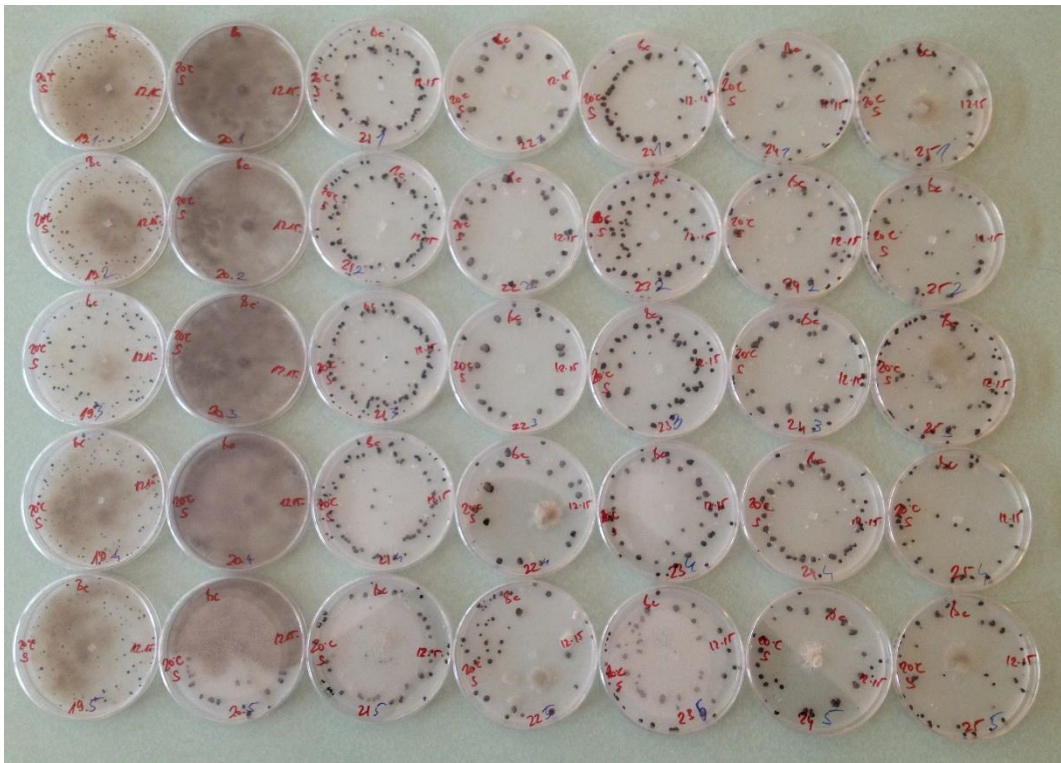
Badacsonyi minták. 5°C sötét



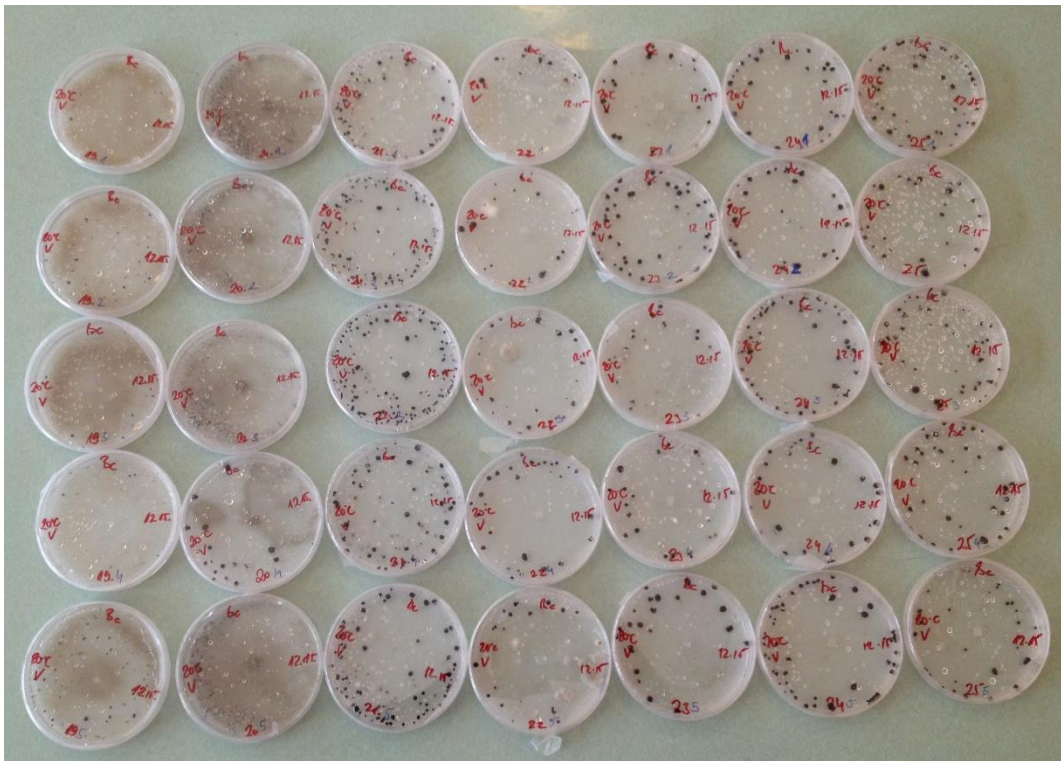
Badacsonyi minták. 10°C sötét



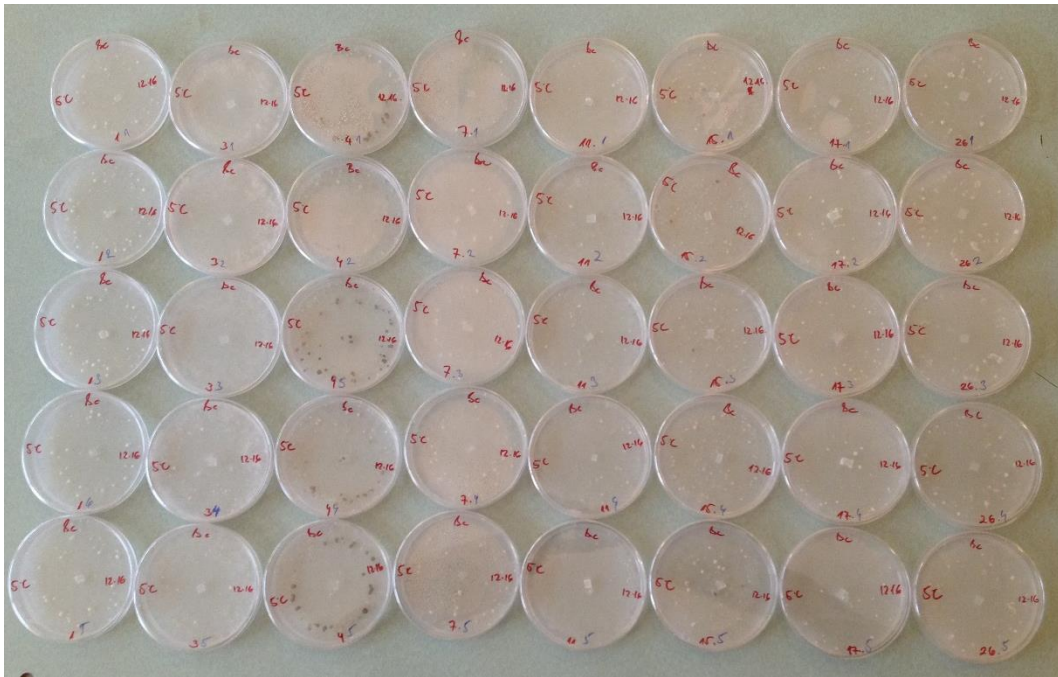
Badacsonyi minták. 20°C sötét



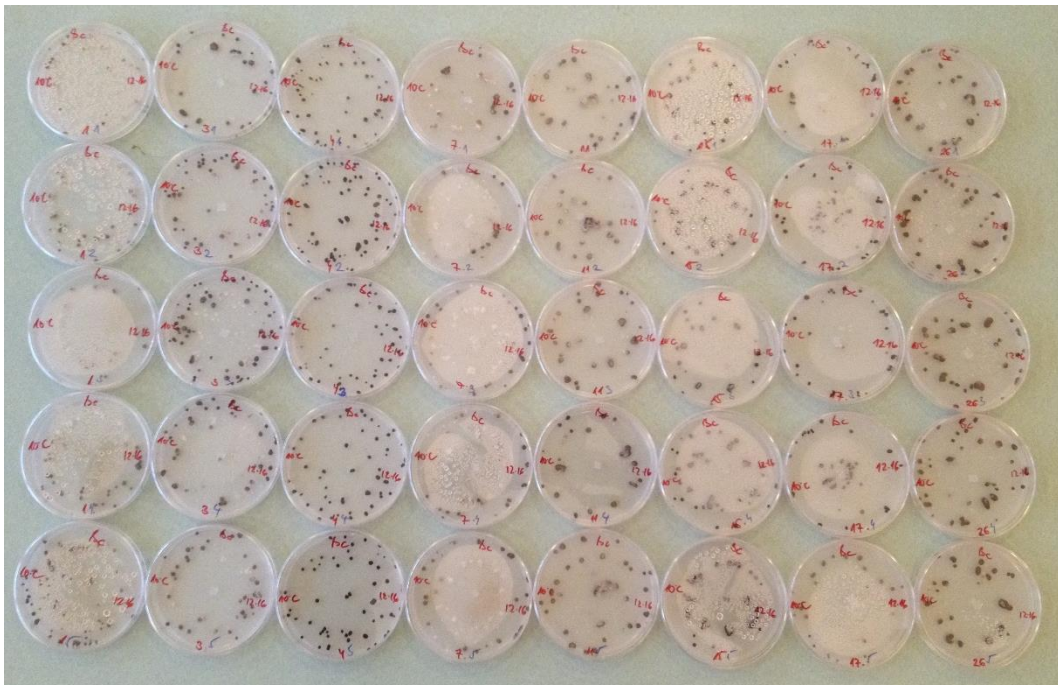
Badacsonyi minták. 20°C világos



Minták különböző helyszínekről. 5 °C sötét



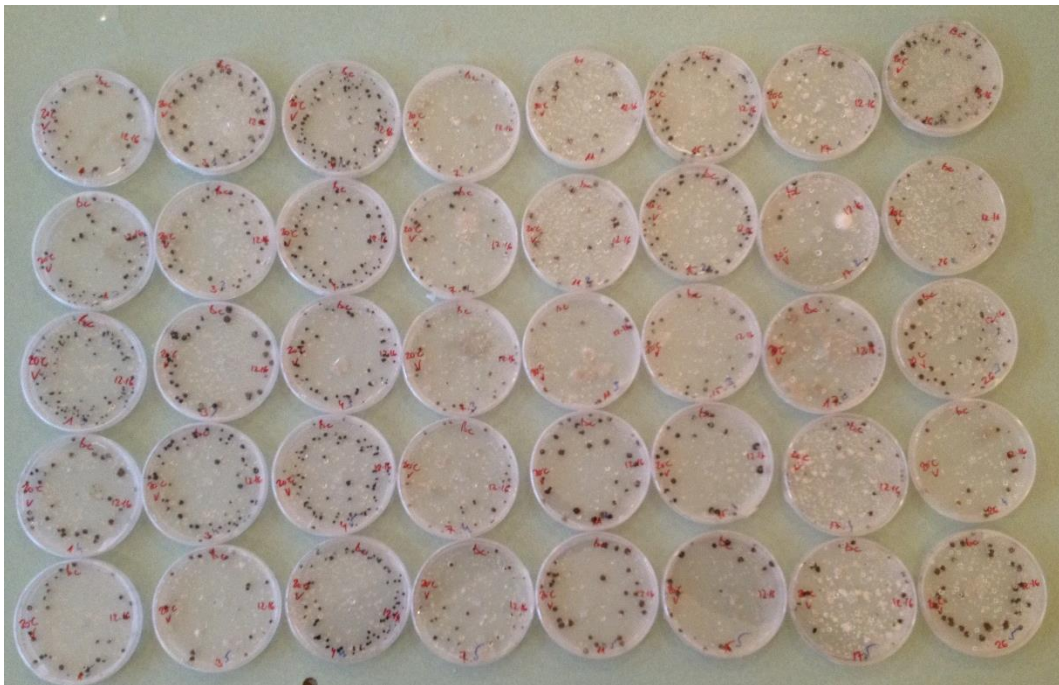
Minták különböző helyszínekről. 10 °C sötét



Minták különböző helyszínekről. 20 °C sötét



Minták különböző helyszínekről. 20 °C világos



7. melléklet: Kapott mikroszatellit fragmenthosszok 2 lókuszban.

Samp ID	Bc1	Bc1	Bc3	Bc3
S1	212	328	122	144
S2	152	197	113	113
Ka1	137	214	107	107
Ka2	138	215	113	118
Sz1	181	187	120	120
Sz2	206	210	136	141
Sz3	206	210	115	120
T1	202	206	109	110
T2	208	213	125	125
Bo1	171	173	119	119
A1	153	191	112	116
A2	197	203	108	112
A3	218	219	111	115
Z1	216	284	130	134
Z2	205	209	117	122
Cs1	207	212	112	116
Cs2	202	206	108	108
Cs3	138	207		
Cs4			115	115
Ke1	203	209	108	108
Ke2	234	237	117	121
Ke3	183	184	111	115
B1	203	210	118	119
B2	209	213	133	137
B3	212	293	114	119
B4	149	222	119	123
B5	201	204	111	113
B6	239	243	108	111
B7	214	291	117	121
Fr1	152	220	107	109
Ba1	164	214	112	112