



Szent István Egyetem

**A feketerothadás (*Guignardia bidwellii* (Ellis) Viala et Ravaz) elleni
rezisztencia források azonosítása és felhasználhatósága a szőlő rezisztencia
nemesítésében**

Doktori (PhD) értekezés

Roznik Dóra

Budapest

2019

A doktori iskola megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola

tudományága: Kertészeti Biológia

vezetője: Zámboriné Dr. Németh Éva
Tanszékvezető, egyetemi tanár, DSc
SZIE, Kertészettudományi Kar,
Gyógy- és Aromanövények Tanszék

Témavezető Dr. Kozma Pál
Osztályvezető, tudományos főmunkatárs, PhD
PTE SZBKI, Pécs

Társtémavezető: Dr. Oláh Róbert
Tudományos főmunkatárs, PhD
NAIK SZBKI, Kecskemét

.....
Dr. Kozma Pál

A témavezető jóváhagyása

.....
Dr. Oláh Róbert

Társtémavezető jóváhagyása

.....
Zámboriné Dr. Németh Éva

Az iskolavezető jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

JELÖLÉSEK, RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	4
1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS	5
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	7
2.1. A szőlő feketetrohadása	7
2.1.1. Feketrohadás megjelenése és terjedése	7
2.1.2. Feketrohadás betegség tünetei	8
2.1.2.1. Feketrohadás tünetek a szőlő levelén és hajtásán	8
2.1.2.2. Feketrohadás tünete szőlő bogyón és fürtön	10
2.1.3. <i>G. bidwellii</i> a feketetrohadás kórokozója	12
2.1.3.1. <i>G. bidwellii</i> gomba biológiája, rendszertana	12
2.1.3.2. A <i>G. bidwellii</i> életciklusa	14
2.1.4. A szőlő <i>G. bidwellii</i> általi fertőzése	16
2.1.4.1. Mikroszkópos vizsgálatok a gomba csírázásának tanulmányozásában	18
2.1.4.2. A szőlő feketetrohadással szembeni fogékony periódusai	19
2.1.4.3. A tünetek megjelenéséig szükséges inkubációs idő	21
2.1.4.4. <i>G. bidwellii</i> patogenitása	21
2.1.4.5. Járványtani kutatások	22
2.1.5. A <i>G. bidwellii</i> tenyészetek <i>in vitro</i> fenntartása	24
2.2. Feketrohadással szembeni védekezés lehetőségei	25
2.2.1. Agrotechnikai eljárások a feketetrohadással szembeni védelemben	26
2.2.2. Kémiai növényvédelem lehetőségei a feketetrohadással szemben	26
2.2.3. Biológiai védekezés a feketetrohadással szemben	27
2.3. Feketrohadással szembeni védekezési mechanizmusok szőlőnövény esetében	28
2.3.1. Feketrohadás rezisztencia faktorok azonosítása	30
2.4. Szőlő rezisztencianemesítése	31
2.4.1. Rezisztencianemesítés a PTE Szőlészeti és Borászati Kutatóintézetében	33
2.4.2. Rezisztens fajták termesztése a fenntartható szőlőtermesztésben	34
2.4.3. Feketrohadás rezisztenciára nemesítés forrásai	35
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	38
3.1. A kórokozó patogén gomba <i>in vitro</i> fenntartása	38
3.1.1. A <i>G. bidwellii</i> begyűjtése	38
3.1.2. <i>G. bidwellii</i> <i>in vitro</i> izolátum készítés és nevelés	38
3.1.3. A kórokozó azonosítása	39
3.1.3.1. A <i>G. bidwellii</i> izolátumok morfológiai azonosítása	39
3.1.3.2. A <i>G. bidwellii</i> izolátumok molekuláris azonosítása	39
3.1.4. Táptalaj kísérletek beállítása <i>G. bidwellii</i> <i>in vitro</i> neveléséhez	39
3.1.5. Fertőzőanyag előállítása és ellenőrzése	40
3.1.5.1. Spóraszuszpenzió készítése	40
3.1.5.2. A fertőzőanyag patogenitásának ellenőrzése	40
3.1.5.3. Sporulációs kísérlet	40
3.2. Növényanyag	41
3.2.1. Feketrohadás rezisztencia forrás felkutatásához felhasznált növényanyag	41
3.2.2. Feketrohadás rezisztencia öröklődésének, nemesítési alapanyag vizsgálatának növényanyaga	42
3.2.3. Tesztnövények előállítása és fenntartása	43
3.2.3.1. Dugványkészítés	43
3.2.3.2. Hibridcsaládok előállítása	43
3.2.3.3. Növényanyag fenntartása	44
3.3. Fertőzési kísérletek	44
3.3.1. Mesterséges fertőzés klímazobában	44

3.3.1.1. Mesterséges levélfertőzés klímaszobában	44
3.3.1.2. Mesterséges levélfertőzés papírkorongos módszerrel	45
3.3.1.3. Mesterséges bogyó- és fürtfertőzés klímaszobában	46
3.3.2. Mesterséges bogyó- és fürtfertőzés szabadföldön	46
3.3.3. Szabadföldi természetes feketerothadás fertőzés megfigyelése	47
3.4. Fertőzési kísérletek értékelése	47
3.4.1. Feketerothadás levélfertőzés értékelése	47
3.4.2. Feketerothadás bogyófertőzés értékelése	49
3.4.3. Mesterséges fertőzések statisztikai értékeléséhez használt módszerek	49
4. EREDMÉNYEK	50
4.1. A <i>G. bidwellii</i> izolátum készítésének és ellenőrzésének eredményei	50
4.1.1. <i>G. bidwellii</i> izolátumok morfológiai azonosításának eredményei	50
4.1.2. A <i>G. bidwellii</i> izolátumok molekuláris azonosítása	51
4.1.3. Táptalajkísérletek eredményei	51
4.1.4. Fertőzőanyag előállítása és ellenőrzése	53
4.1.4.1. A fertőzőanyag patogenitásának ellenőrzése	54
4.1.4.2. Spórulációs kísérlet eredménye	54
4.2. Fertőzési kísérletek eredményei	55
4.2.1. Mesterséges levélfertőzések eredményei klímaszobában	55
4.2.2. Mesterséges papírkorongos levélfertőzés eredményei	69
4.2.3. Mesterséges bogyó- és fürtfertőzések eredményei	71
4.2.3.1. Mesterséges bogyó- és fürtfertőzések eredményei klímaszobában	71
4.2.3.2. Mesterséges bogyó- és fürtfertőzések eredményei szabadföldön	74
4.2.4. Szabadföldi természetes feketerothadás fertőzés eredményei	75
4.3. Új tudományos eredmények	77
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	78
5.1. A <i>G. bidwellii</i> , a szőlő feketerothadásos megbetegedését okozó gomba <i>in vitro</i> fenntartásának és spórulációs kísérleteinek tapasztalatai	78
5.2. Feketerothadás rezisztenciaforrás keresés értékelése	79
5.2.1. Feketerothadás levél- és fürtellenállóság összefüggései	83
5.3. Feketerothadás rezisztencia értékelése a hibridcsaládokban	86
5.4. Feketerothadás rezisztencia bonitálásának értékelése, tapasztalatai	89
6. ÖSSZEFOGLALÁS	92
7. SUMMARY	94
9. MELLÉKLETEK	103
9.1. A <i>V. vinifera</i> szőlő főbb fenológiai növekedési fázisai a BBCH határozó kulcs alapján	
9.2. A PTE SZBKI szőlő génbank feketerothadás ellenállóság felmérése szabadföldön, 2012	104
9.3. A tesztelt szőlő fajták és hibridek listája, azok ismert pedigréjének megadásával	105
9.4. A <i>Guignardia bidwellii</i> izolátumok molekuláris fajszerinti azonosításakor a BLAST kereső programhoz felhasznált LSU szekvencia	108
9.5. Filogenetikai fa, a vizsgált <i>G. bidwellii</i> szekvenciával homológiát mutató szekvenciával	109
9.6. Egyes franko-amerikai interspecifikus rezisztens fajták családfája	110
9.7. A NY06.0516.04-es számú Genevai hibrid családfája	111
10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	112

JELÖLÉSEK, RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

Avr:	(Avirulence): avirulencia gén
BBCH:	Növények fenológiai stádiumának határozó kulcsa
DNS:	Dezoxiribonukleinsav
ETI:	(Effector Triggered Immunity): effektor molekulák által előidézett immunválasz
ETS:	(Effector Triggered Susceptibility): effektor molekulák által kiváltott fogékonyság
EU:	(European Union) Európai Unió
FAO:	(Food and Agriculture Organization): Élelmizésügyi és Mezőgazdasági Világszervezet
HNT:	Hegyközségek Nemzeti Tanácsa
HR:	(Hypersensitivity reaction): hiperszenzitív reakció
INRA:	Institut National de la Recherche Agronomique, Franciaország - www.international.inra.fr
IPGRI:	International Plant Genetic Resources Institute - www.cgiar.org/IPGRI/index.htm
KSH:	Központi Statisztikai Hivatal
KRF:	Károly Róbert Főiskola
LRR:	(Leucine-rich repeat) leucinban gazdag ismétlődések
MAPK:	(Mitogen-Activated Protein Kinases): mitogén aktivált protein kináz
MAS:	(Marker Assisted Selection): Markereken alapuló szelekció
NB:	(Nucleotid binding) Nukleotid kötő
OIV:	Organisation Internationale de la Vigne et du Vin - www.oiv.int
PAMP:	(Pathogen Associated Molecular Pattern): patogénhez köthető molekuláris mintázat
PCD:	(Programmed cell death): programozott sejthalál
PTI:	(PAMP Triggered Immunity): PAMP molekulák által előidézett immunválasz
PIWI:	(Pilz widerstands fähigen-Sorten): gombabetegségekkel szemben ellenálló fajták
QTL:	(Quantitative Trait Loci) mennyiségi tulajdonság lokusz
R:	(Resistance gene): Rezisztencia gén
ROS:	(Reactive oxygen species): reaktív oxigénfajták
S:	Seibel
SNP:	(Single Nucleotid Polymorphism): Egy nukleotidos polimorfizmus
SSR:	(Simple Sequence Repeat): Egyszerű szekvencia ismétlődés
SV:	Seyve-Villard
SZBKI:	Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet
VIVC:	(Vitis International Variety Catalogue) - www.vivc.bafz.de

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

Napjainkban az európai szőlő- és borágazatnak komoly kihívásokkal kell szembenéznie. A szőlő ültetvények termésbiztonságát biotikus (pl. vírusok, baktériumok, gombák és kártevők) és abiotikus (pl. szárazság, fagy) tényezők is veszélyeztetik. A világon megközelítőleg 7,6 millió hektáron termesztnek szőlőt (OIV 2016), melynek 71%-a bortermő *Vitis vinifera* ültetvény. A termesztésben lévő 8-10.000 *V. vinifera* szőlőfajta eltérő mértékben, de fogékony a szőlőt károsító betegségekre, melyek egyaránt veszélyeztetik a termés minőségét és mennyiségét. A növényvédelem területén egy már feledésbe merült kórokozóval, a feketerothadással kell hazánkban és néhány európai országban a termesztőknek újra szembenézniük, mely a lisztharmat és peronoszpóra behurcolása után Amerikából került be Európába a XIX. század végén. Mindhárom kórokozó komoly termés kiesést képes okozni a szőlőültetvényekben. A szőlő mai, intenzív termesztése a megelőző kémiai növényvédelemre épül. A kijuttatott nagy mennyiségű növényvédőszer hatalmas terhelést jelent a környezetre, ártalmas az ember egészségére és ugyanakkor nagyon költséges, az éves termesztési összköltség jelentős részét jelenti. A fenntartható szőlőtermesztés szempontjából a legígéretesebb megközelítés a rezisztens fajták előállítása és termesztésbe vonása. Rezisztens fajták termesztésével jelentősen mérséklődne a veszélyes vegyszerek használata és kedvezne a modern bio-, illetve ökológiai gazdaságoknak, valamint a növekvő fogyasztói igényeket kielégítő környezetkímélő társadalmi elvárásoknak. A nagy károkat okozó kórokozókkal szemben rezisztens új szőlőfajták előállítása azonban idő- és forrásigényes folyamat, keresztezéseket követően az utódnemzedék fenntartása nagy tenyésztési területet igényel, fenntartása költséges. Az egyedek termőre fordítása, értékelése minimum 5-6 évig tart. Versenyképes minőségű, magas fokú és tartós rezisztenciával rendelkező szőlőfajták előállítása lépésről-lépésre történhet, az egyes kórokozók ellen több rezisztencia gén halmozásával lehetséges. Elsőként a gazdaságilag jelentősebb kórokozók (peronoszpóra, lisztharmat, szürkerothadás) elleni rezisztens fajták előállítása szükséges, majd a kémiai védelem miatt háttérbe szorult kórokozók (feketerothadás, antraknózis, fekete foltosság) elleni rezisztencia beépítését kell elvégezni.

A feketerothadást az 1853-ban azonosított *Guignardia bidwellii* (Ellis) Viala et Ravaz Észak-Amerikában őshonos gomba okozza. A kórokozóval a korábbi évtizedekben nem kellett számolni Magyarországon növényvédelmi szempontból, egészen a 2010-es járványos fellépéséig, ezért ellene irányuló vegyszeres kezelések nem képezték külön részét a szőlő növényvédelmi technológiájának. Gazdasági jelentőségét növeli, hogy a gomba a szőlő minden növekvésben levő zöld részét képes megfertőzni, járványos években pedig a termés 80-100%-át elpusztíthatja. A leveleken megjelenő tünetek a fotoszintetizáló felületet csökkentik, mely a tőke gyengüléséhez

vezet. A fertőzött bogyók fekete múmiákká száradva élvezhetetlenné teszik az egész termést. Legnagyobb veszteséget akkor okozza, ha a virágzáskor fertőz. A gomba járványszerű megjelenésének és súlyos kártételének okai: a lisztharmat és peronoszpóra kórokozókkal szemben rezisztens fajták termesztése vegyszeres kezelés nélkül, a kémiai vegyszerhasználat elhagyását vagy mérséklését célzó alternatív növényvédelmi technológiák alkalmazása, illetve a klímaváltozás hatására bekövetkező gyakori, meleg és párás periódusok a vegetáció során a kórokozó számára kedvező időjárási körülmények. A műveletlenül hagyott területek rezervoárként szolgáltak az inokulum felhalmozódásához és hozzájárulhatnak a járványok kialakulásához.

A PTE Szőlészeti és Borászati Kutatóintézete 2000 óta foglalkozik lisztharmattal és peronoszpórával szemben magas fokon ellenálló és versenyképes minőséggel rendelkező szőlőfajták nemesítésével. Az előállított új, innovatív fajtajelöltek és fajták már üzemi termesztési kísérletekben vesznek részt. 2010 óta Magyarországon is egyre gyakrabban felbukkanó feketerothadás veszélyezteti az elért nemesítési eredményeket, mivel ezen innovatív fajtajelöltek és fajták fogékonyak a feketerothadással szemben. A Kutatóintézet új nemesítési programjában a feketerothadás gomba elleni ellenállóképesség beépítését célozta meg a rezisztens fajtákba, hogy megalapozzuk a kémiai növényvédelem nélküli minőségi szőlőtermesztést. Dolgozatunk célja, ehhez a munkához megfelelő magas szintű feketerothadás rezisztenciaforrás azonosítása, a rezisztencia öröklődésének megfigyelése, és a szőlő feketerothadásának részletes bemutatása.

A célok megvalósításához az alábbi feladatokat tűztük ki:

- génbanki anyagok begyűjtése, belőlük 3-4 példányban gyökeres teszt dugványok készítése a feketerothadás ellenállóságuk felméréséhez, rezisztenciaforrás kereséshez
- nagytömegű növényanyag mesterséges feketerothadás fertőzése, bonitálása
- hatékony eljárások kidolgozása a *Guignardia bidwellii* patogén gomba *in vitro* fenntartására, a fertőzés, valamint az azt követő inkubálás elvégzésére
- szőlőfürtök feketerothadás ellenállóképességének pontos meghatározásához vezető fertőzési és bonitálási módszer kidolgozása
- a növények feketerothadás fürt- és lombrezisztenciája közötti kapcsolat meghatározása
- feketerothadás rezisztenciára hasadó hibridpopulációk készítése, nevelése és mesterséges tesztelése a rezisztencia öröklődésének megfigyelésére.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A szőlő feketerothadása

2.1.1. Feketerothadás megjelenése és terjedése

A szőlő feketerothadásos megbetegedését az aszkospórás *Guignardia. bidwellii* (Ellis) Viala et Ravaz patogén gomba okozza, aminek következtében az ültetvényekben jelentős termés kiesés és minőségi romlás figyelhető meg. Maga a kórokozó Észak-Amerikában őshonos, a Sziklás hegység környékéről származik, ahonnan a fertőzött szőlőanyaggal terjedt szét világszerte. Legelső említése 1804-ből való, amikor Kentucky állam egyik szőlőhegyén feljegyezték a feketerothadás felbukkanását (RAMSDELL és MILHOLLAND 1989). Magát a kórokozót 1853-ban azonosították, miután az 1848-as ohiói súlyos kártételét követően komolyabban kezdtek foglalkozni a betegséggel. Az 1870-es évekre több államban okozott állandó problémát a feketerothadás. Kezdetben az USA nyugati területein, majd rendszeres totális termésvesztésről érkeztek beszámolók Alabama, Georgia, Illinois, Indiana, Észak- és Dél Karolina, New Jersey, Ohio, Pennsylvania, Tennessee, Virginia és Kansas államokból (SCRIBNER 1886). A 19. század végére az USA minden államában jelentős kártevőként tartották számon, terjedése nyomán, bizonyos helyeken még a szőlőtermesztéssel is felhagytak (SCRIBNER 1886). Napjainkig Kaliforniát leszámítva az USA minden szőlőtermő régiójában előfordulhat. A betegség a black rot (feketerothadás) hétköznapi elnevezést az amerikai szőlőtermesztőktől kapta, a színesedő bogyókon hirtelen, 24-48 óra alatt fellépő, megfeketedve összerohadó bogyók miatt. Felbukkanásakor a szőlő egyik legszörnyűbb betegségeként írták le a feketerothadást, ami ellen nehéz volt védekezni. Európába importált szőlő szaporítóanyag szállítmányokkal került át 1885-ben. Elsőként Franciaország csapadékosabb, meleg délnyugati szőlőterületein fedezték fel a *G. bidwellii* jelenlétét, nem sokkal a lisztharmat és peronoszpóra felbukkanását és térhódítását követően. A rákövetkező évben (1886) jelent meg VIALA és RAVAZ tanulmánya, amelyben igen részletesen foglalkoznak a betegség leírásával (LEHOCZKY és REICHART 1968). Az ezt követő évtizedben a feketerothadás Franciaország egyes tartományaiban elszórtan, kis területeken és elenyésző kártétellel jelentkezett csupán. Magyarországra 1892-ig csak a híre jutott el az új gombás betegségnek, tekintve azonban, hogy az Egyesült Államokban milyen pusztításokat végzett a gomba, zárlatot rendelt el a kormány a francia szőlővesszők behozatalára. A tilalom két évre szólt, amíg a hazai mikológusok felmérték a kockázatokat. Javaslatukra csak feketerothadástól mentes területekről származó, majd fertőtlenítésen átesett vesszők kerülhettek be hazánkba (LINHART és MEZEY 1892). Ezen óvintézkedéseknek és a kórokozó környezeti igényeinek (nagy meleg és nedvesség igényű), másrészt a lisztharmat és peronoszpóra ellen kijuttatott növényvédő szereknek tulajdonítható, hogy a feketerothadás kártételével még hosszú ideig nem találkoztak az európai szőlőültetvényekben (HOFFMANN et al. 2018). Több, mint 100

évvel a kórokozó érkezése után, 2000-től egyre több országból számoltak be a feketerothadás felbukkanásáról és járványszerű pusztításáról (MOLITOR 2009). Gócpontja Franciaország volt, ahonnan Svájc, Németország, majd később a délibb fekvésű országok felé terjedt, mint Románia, Magyarország, Bulgária, Ausztria, Olaszország és Spanyolország szőlőterületei (MOHR 2005; LIPPS és HARMS 2004). Hazánkban a feketerothadást Mikulás József jelentette elsőként, aki 1999-ben látta piknidiomos alakját a Kecskemét környéki szőlőkben és Tokaj-hegyalja egyes területein is találkozott a tünetekkel (MIKULÁS et al. 1999). Magyarországon és a mediterrán régió szőlőültetvényeiben 2010 óta rendszeresen komoly feketerothadás kártételről számolnak be a gazdák, van ahol a termésveszteség 100%-os volt (RINALDI et al. 2013). A járványok kialakulása több okra vezethető vissza. Egyrészt a csökkentett kémiai növényvédelem mellett termesztett lisztharmat és peronoszpóra rezisztens fajták térhódítására, valamint az ökológiai növényvédelemben részesülő szőlőültetvények területének növekedésére Európa szerte. Ezekben az ültetvényekben alkalmazott növényvédelmi eljárások nem elég hatékonyak a feketerothadással szemben igen fogékonynak bizonyult fajták termesztéséhez. Emellett egyre nő a gondozatlan ültetvények száma, melyekben nem végeznek kémiai növényvédelmet, így teret adnak a kórokozó felszaporodásának. Mindkét típusú ültetvény spóra rezervoárként szolgál, és fertőzési gócpontot jelent. Másrészt a klímaváltozásnak köszönhetően gyakoribbá váltak a szélsőséges időjárási jelenségek Európában is. A vegetációs időszakban előforduló, hosszú ideig tartó csapadékos periódusok szintén kedveznek a járványok kialakulásának.

2.1.2. Feketerothadás betegség tünetei

A tünetek kialakulásához három tényező együttes megléte szükséges, mint a fogékony szőlő szövet, a kórokozó életképes spórája, és annak csírázásához kedvező környezeti feltételek (hőmérséklet, felületi nedvesség, relatív páratartalom) teljesülése. A feketerothadás tünetek a szőlő minden zöld részén (levél, levélnyél, hajtás, kacs, fürt) kifejlődhetnek, de a gomba csak a fiatal, növekvésben lévő szöveteket képes megfertőzni (KUO és HOCH 1996a).

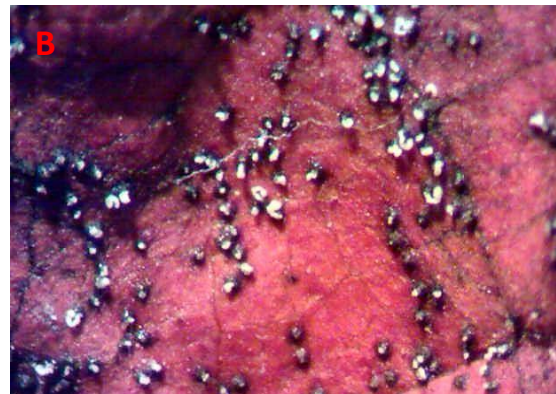
2.1.2.1. Feketerothadás tünetek a szőlő levelén és hajtásán

A növények levelein az első tünetek tavasztól figyelhetőek meg általában a 2-3. és 4-5. kiterült levelek színén. A leveleken a jellegzetes tünetek a fertőzést követő 14-21. napon jelentkeznek kerekded, a levél erek mellett szabálytalan, kezdetben krémszínű, majd barnás-vöröses sötét szegélyű foltok formájában (RAMSDELL és MILHOLLAND 1989). A foltok mérete függ a levelek helyzetétől (1. ábra), átlagos méretük 2-10 mm között mozog. Zsenge leveleken a foltok kialakulása a levéllemez színtelenedésével kezdődik, majd a sötétebb szegélyek alakulnak ki, végül a foltok nekrotizálódása következtében barnára, szürkére színeződnek. A nekrotizált foltok

a levél színén és fonákán egyaránt jól láthatóak, időnként előfordul a léziók kipotyogása. Súlyos fertőzöttség esetén a növekvő felületű foltok összefolynak, egyesülésükkor szabálytalan nagyobb alakzatok alakulnak ki (2/A. ábra), akár az egész levél felülete elhalhat. A kórokozó ivartalan szaporító képletei, a fekete színű piknídiumok nagy számban fejlődnek ki, a foltokban legtöbbször kör alakba rendeződve, kiemelkedve a levél kutikulájából (2/A. ábra). A piknídiumokból nedves időben tömegesen szabadulnak ki a 2-3 hét alatt megérő konidiospórák (2/B. ábra). A fertőzés súlyosságát jellemzi az egy levélen megjelenő foltok mérete és száma, és a piknídiumok sűrűsége.



1. ábra Feketerothadásra jellemző tünetek a 4. és 5. helyzetű *V. vinifera* levélen, Pécs, 2014.



2. ábra A: Súlyos feketetrohadás fertőzés következtében összefolyó tünetek *V. vinifera* szőlőlevelén; B: A levélfoltokban fejlődő piknídiumok és a kiszabaduló érett konidiospórák, Pécs, 2015.

A hajtásokra, levélnyélre, kocsányra oválisabb, hosszúkás sötétebb foltok a jellemzőek, bennük szintén kifejlődnek a fekete piknídiumok. A léziók, melyek mérete akár 2 cm hosszát is eléri, benyomódhatnak, roncsolva a kapcsolódó szállítószöveteket (3. ábra), ezzel a hajtásvég, virág- és fürtkocsány pusztulását okozva (RAMSDELL és MILHOLLAND 1989). A levélnyélen megnyúlt fekete foltok körülölelik a nyelet, ami ennek következtében eltörhet, a levél pedig teljesen elhervad (WILCOX 2003). LUTTRELL (1946) számolt be arról, hogy a *muscadinia* szőlők (*Muscadinia*

rotundifolia) vesszőin és hajtásain található feketerothadás léziók milyen fontos szerepet töltenek be a kórokozó áttelelésében és a kórokozó életciklusában.



3. ábra A szőlő hajtáson kezdetben fekete, majd kiszürkülő közepű enyhén besüppedő piknídiumokat tartalmazó feketerothadás foltok, Pécs, 2014.

2.1.2.2. Feketerothadás tünete szőlő bogyón és fürtön

A gazdasági kárt a fürtök pusztítása, és az ebből eredő termés kiesés jelenti. A betegség eleinte a fürtöknek csak bizonyos bogyóit érinti, azokról fertőzi tovább a többi bogyót, ilyenkor a fürtökön a betegség különböző stádiumait lehet nyomon követni. A fertőzés a fejlődő zöld bogyó oldalán apró (1-6 mm) fehér ütődésre hasonlító foltként jelentkezik. Ez, ahogy terjed, kékes-barna folttá válik, majd 24 órán belül eléri az 1 cm nagyságot, végül az egész bogyót átéri. A bogyóhéj barnulásával a bogyó húsa szivacszerűen meglágyul. Ekkor indul meg a bogyó ráncosodása, kiszáradása. A ráncosodó bogyókon megjelennek a fekete piknídiumok. A betegség előrehaladtával a bogyók lilás-feketés színbe mennek át, és méretük kb. a felére zsugorodik. Ezekon a változásokon a bogyók rendkívül gyorsan esnek át, a barnulás 24-48 óra alatt, a teljes rothadás pedig 4-5 nap alatt lezajlik (WILCOX 2003). A megfertőzött bogyók múmiává válásának folyamatát a 4. ábra mutatja be. A fekete bogyómúmiák nem peregnek ki, fent maradnak a fürtkocsányon (5. ábra) felületük érdes a kiemelkedő sok piknídiumtól. A fertőzött fürtökben vegyesen lehetnek ép bogyók és bogyómúmiák, a fertőzés súlyosságának függvényében. Az ilyen vegyes fürtök nem szüretelhetőek, mert a fertőzött bogyómúmiák már kis százalékban minőségi romlást okoznak, erős keserű ízük miatt.



4. ábra A: A feketerothadással fertőzött bogyók kezdetben világosbarnára színeződnek a fürtben;
B: néhány nap alatt fekete múmiává zsugorodnak, Pécs, A4 tábla, 2016.



5. ábra Fertőzött bogyók felszínüket sűrűn borító piknídiumokkal, Pécs, 2016.

A fürtöket a virágzás előtti és alatti időszakban csak a kocsányon keresztül képes fertőzni a kórokozó. Fertőzés hatására elhal a kocsány, így a fertőzött részek lehullanak, akár totális (100%-os) fürtpusztítást végezve (6. ábra).



6. ábra Korai feketerothadás kocsányon keresztüli fürtfertőzést követően elhalt fiatal bogyók és fütrészek (A) és totálisan (100%) elpusztult fürt (B) felvétele, Pécs, 2016.

A bogyók a virágzást követő 4-5 héten keresztül a legfogékonyabbak a fertőzésre. A bogyók fogékony fenofázisa fajtánként eltérő hosszúságú, de zsendüléskor már minden fajtánál lezárul.

A *muscadinia* szőlők bogyóin azt figyelték meg, hogy a klasszikus tünetekkel ellentétben, egyes esetekben a bogyó héján keletkező fekete, későbbiekben a bogyó szöveteibe süppedő, foltok fejlődtek, amikben felfedezhetőek a *G. bidwellii* piknidiumai (LUTTRELL 1946).

2.1.3. *G. bidwellii* a feketerothadás kórokozója

2.1.3.1. *G. bidwellii* gomba biológiája, rendszertana

A szőlő (*Vitis* spp.) feketerothadásos megbetegedését a *G. bidwellii* (Ellis) Viala et Ravaz patogén gomba okozza. A gomba ivartalan alakja a *Phyllosticta ampellicida* (Englem.) Van Der Aa, amit 1973-ig *Phoma* néven ismertek (VAN DER AA 1973). Korábbi irodalmakban találkozhatunk szinonim neveivel, mint *Sphaeria bidwellii* Ellis, *Laestadia bidwellii*, vagy *Botryosphaeria bidwellii*. Rendszertani besorolását a kórokozó leírása óta többször megváltoztatták. Jelenleg használatos, molekuláris vizsgálatokon is alapuló rendszertani besorolását a kórokozónak KENDRICK (1992) publikálta:

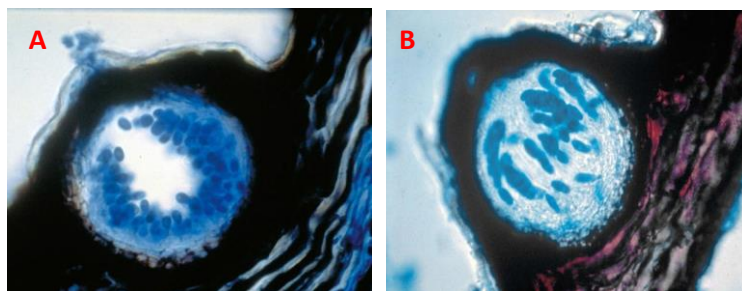
ország:	Fungi
törzs:	Ascomycota
osztály:	Dothideomycetes
rend:	<i>Botryosphaerales</i>
család:	<i>Botryosphaeriaceae</i>
faj:	<i>Guignardia bidwellii</i>

Habár a kórokozó gombáknál az anamorf alak nevének használatát javasolják, mint egyedüli megnevezését a gombának (HAWKSWORTH et al. 2011), mégis a *G. bidwellii* teleomorf alak neve terjedt el a kutatók és tanácsadók körében (ROSSI et al. 2014, WEIGLE 2017). A *G. bidwellii* taxonok filogenetikai elemzését WICHT és mtsai (2012) közzölték. Ebben a tanulmányban svájci, franciaországi és németországi ültetvények *V. vinifera* fajtáiról és *Parthenocissus* fajokról gyűjtötték be a *G. bidwellii* izolátumokat, melyeket morfológiai, molekuláris és proteomikai módszerekkel vizsgáltak. Eredményeik alapján javasolták a *Parthenocissus* fajokról illetve a termesztett szőlőről származó törzsek két külön csoportba való elkülönítését. A *G. bidwellii* genotípusok azonosításához, a gomba populáció szerkezetének és járványtanának vizsgálatához 11 specifikus mikroszatellit markert fejlesztettek NARDUZZI és mtsai (2014). Az öt országból (Svájc, Németország, Franciaország, Luxemburg és USA) -bogyómúmiákból, levél foltokból és tenyészetekből- begyűjtött 64 mintát multiplex PCR segítségével vizsgálták. A fejlesztett SSR markerek sikerrel alkalmazhatóak a kórokozó populációk genetikai variabilitásának felméréséhez. A Bordeaux környéki szőlőültetvényekből származó mintákban mutatták ki a legnagyobb allél gazdagságot, ami összefügg azzal, hogy Európában ezen a vidéken jelent meg elsőként a kórokozó. A specifikussági teszten a *Parthenocissus*-ból izolált *P. ampellicida* tenyészetek negatív eredményt adtak, bennük az SSR markerek nem amplifikálódtak. Ezzel szemben a *V. vinifera* fajtákról

származó izolátumokban sikeresen mutatták ki az amplifikátumokat. A populáció filogenetikai vizsgálatakor a minták országonként és minta gyűjtésenként elkülönültek egymástól.

A *G. bidwellii*ről az első átfogó tanulmány REDDICK 1911-ben írt műve. Ebben már részletesen foglalkozott a gomba biológiájával, növekedésével és szaporító képleteinek megfigyelésével. A gomba struktúrák tanulmányozásával megerősítette azt, hogy a *G. bidwellii* a *Botryosphaeriaceae* családba tartozik. Tanulmányozta a gomba növekedésének környezeti feltételeit, a spórák élettartamát, az aszkuszok, apresszóriumok, és a termőtestek (piknídiumok, szklerociumok, spermogóniumok) fejlődését.

A *G. bidwellii*nek ivartalan termőteste a fertőzés következményeként jelentkező foltokban kifejlődő piknídium. A piknídiumok gömb formájú, fekete vastag falú tokkal határoltak és egyesével türemkednek ki a levél színén. Nagyságuk 60-200 μm átmérő között mozog. Sima felszínükön található egy szájníylásra hasonlító üreg, amin keresztül a termelőző konídiumok kiürülnek. A bennük aszexuálisan keletkező konídiumok egysejtűek, ovális formájúnak mondhatóak, de ellipszis vagy gömb alakúak is lehetnek (7/A. ábra). Méretük 5-12 x 4-7 μm (RAMSDELL és MILHOLLAND 1989), és egy ragadós burok veszi őket körül, ami kb. 5-8 μm sugárban terjed az apikális csúcstól (KUO és HOCH 1995). A ragadó függelék funkciója még nem teljesen tisztázott, de közreműködik a spóra szubsztráthoz való kapcsolódásában (KUO és HOCH 1996a). A függelék morfológiája segíti megkülönböztetni egymástól a *Phyllosticta* fajokat. A konídiumok nagyobb mennyiségben tartalmaznak kerekded zsírtesteket. A piknídiumokból alakulnak ki az áttelelést szolgáló ivaros termőtestek, a peritéciumok. Bennük találhatóak az aszkuszok, amikben redukciós sejtosztódással jön létre a 8 db színtelen egysejtű aszkospóra (7/B. ábra). Az aszkospórák megközelítőleg 11-18 x 5-9 μm nagyságúak, az átlátszó, nyálkás apikális sapkával együtt mérve (ANDERSON 1956). Másik ivarteste a sztrómában található kerekded szeparáltan elhelyezkedő pszeudotécium, a csúcsán nyílással, ezek nagysága megközelítőleg 70-180 μm . Felszínük sima, néha papillákkal tarkított. A *G. bidwellii* pszeudotéciumai parafízis mentesek. A fala pszeudoparenhima sejtekből áll. Bennük aszkuszok képződnek a párna formájú hialin szövetből.



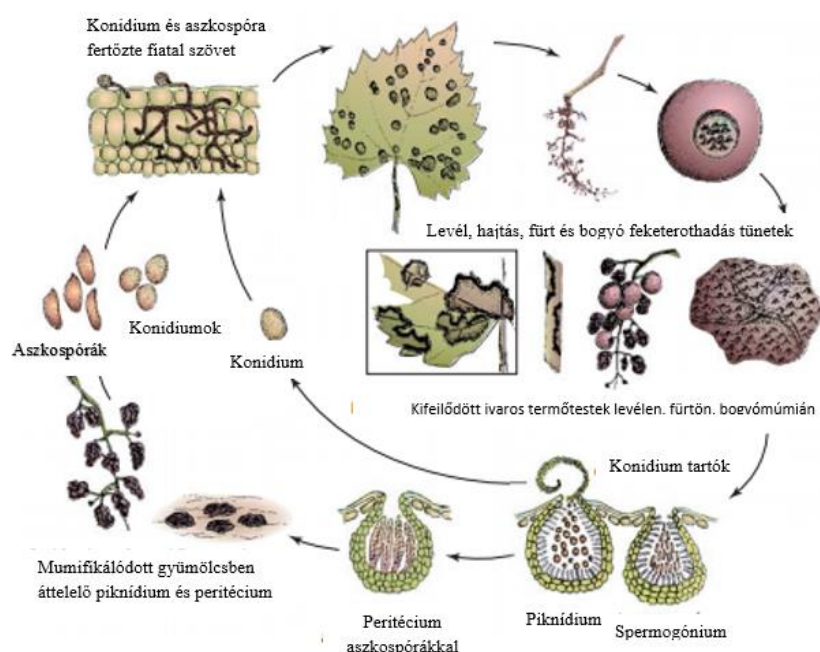
7. ábra Mikroszkópos felvétel a *Guignardia bidwellii* gomba termőtesteiről: A: piknídium a benne érő konídiumokkal; B: peritécium a benne érő aszkuszosokkal (Clerjeau felvétele in SIVANESAN és HOLLIDAY 1981).

A piknídiumnál kisebb jelentőségű fekete gombatest, a spermogónium. Bennük találhatóak a pálcika alakú sterigmák és a végükről lefűződő spermatiumok. A spermácia kisebb méretű ($2,5 \times 1 \mu\text{m}$), átlátszó pálcika alakú sejt (SIVANESAN és HOLLIDAY 1981). A spermogónium termeli a mikrokonídiumokat, amiknek még nem teljesen tisztázott a szexuális szaporodásban betöltött szerepe. A levél felületén kezdetben a spermogóniumok képződnek nagyobb számban, de a nyár vége felé közeledve ez az arány eltolódik a piknídiumok irányába. Ezzel szemben *in vitro* kultúrák megfigyelésekor elsősorban piknídiumok fejlődését tapasztalták a növekvő micéliumokból, amik a betegség gyors terjedését biztosítják a kórokozó számára (LINHART és MEZEY 1892). A *G. bidwellii* hifáiból speciális áttelelő képletek, szkleróciumok fejlődését is megfigyelték (JANEX-FAVRE et al. 1996). ALEXOPOULOS és mtsai (1996) szerint ezek a kitartóképletek olajat tartalmaztak spórák helyett. CALTRIDER (1961) azonban hosszú inkubációs időt követően feljegyezte bennük a konídiumok termelődését. A spórák akár két évig megőrzik életképességüket, amíg a kiszabadulásukhoz kedvezőek nem lesznek a környezeti feltételek.

2.1.3.2. A *G. bidwellii* életciklusa

A feketetrohadás egy policiklikus betegség, ismétlődő elsődleges és másodlagos fertőzési ciklusokkal a vegetációs idő alatt. A feketetrohadás gomba a tőkén vagy talajon maradt bogyómúmiákon és fertőzött növényi részekben akár két évig képes áttelelni a már taglalt ivaros termőtestekben. Tavaszi eső hatására kiszabadulnak a bogyómúmiákból az aszkospórák, amiket a szél szállít a fogékony szövetekre, megindítva az elsődleges fertőzést (KUO és HOCH 1996a). A gomba $7-32\text{ }^{\circ}\text{C}$ között képes fertőzni. A konídiumok, amik a múmiákban és a vessző léziókban termelődtek, szintén csapadék hatására indulnak útra. A spórák légmozgás és vízcseppek segítségével is csak korlátozott távolságot képesek megtenni. A fertőzés akkor következik be, mikor valamelyik spóra típus a hőmérséklettől függően kellő nedvességű fogékony szövetre kerül (WILCOX 2003). Az elsődleges fertőzés és a tünetek megjelenése közötti periódus hossza nagyban függ a kiindulási forrástól. A talajon található bogyómúmiákból az aszkospórák jelentős kiáramlása 2-3 héttel a rügyfakadás után figyelhető meg és tulajdonképpen a virágzás utáni

második hétig tarthat. Ezzel szemben a tőkén hagyott múmiákból az aszkospórák és konídiumok a korai virágzástól az érésig folyamatosan termelődhetnek és kiszabadulhatnak. A vessző léziókban áttelelt konídiumok a rügyfakadástól a nyár közepéig terjedhetnek. Általában a fiatal leveleken és a bogyókon jelentkeznek leghamarabb a tünetek, ami 10-14 nappal követi a spórák csírázását. A megfertőzött növényi sejtekben a gomba micélium fonalak folyamatosan növekednek. A fejlődő hifák terjedésük során áttörik a környező sejtek falait, nekrozist, sejt összeomlást idézve elő. A micéliumok csomókat képeznek az epidermisz rétege alatt, amikből a hőmérséklettől és a gomba számára elérhető tápláléktól függően kialakulnak a különböző termőtestek. A vegetáció kezdeti szakaszában a spermogóniák és piknídiumok formálódását figyelték meg (RAMSDELL és MILHOLLAND 1989). A piknídiumokban gyorsan termelődnek és érnek a konídiumok. Ezek az elsődleges fertőzés foltjaiban termelődő másodlagos spórák nedvesség hatására kiszabadulnak és a betegség nagymértékű terjedését okozzák, különösen, ha fogékony állapotú bogyókra kerülnek. A konídiumok érési folyamata rövidebb, mint az aszkospóraké (JAILLOUX 1992), ezért a nagytömegben kipréselődő konídiumok gyorsabban indítják meg a másodlagos fertőzéseket (HARMS et al. 2005). Ez a fertőzési folyamat a nyár során többször megismétlődhet kedvező időjárási feltételek mellett. Az őszt közeledtével a gomba vegetatív aktivitása lelassul. A fürtök fertőzött bogyómúmiáin a hőmérséklet csökkenésének hatására a peritéciumok (REDDICK 1911) fejlődése figyelhető meg, ez biztosítja a gomba számára a tél átvészelését. A szaporító képletek hibernált állapotban várják a tavaszi felmelegedést és csapadékot. A *G. bidwellii* éves ciklusát a 8. ábra szemlélteti.



8. ábra *Guignardia bidwellii* okozta szőlő feketetrohadás betegség ciklusa
(AGRIOS 2005)

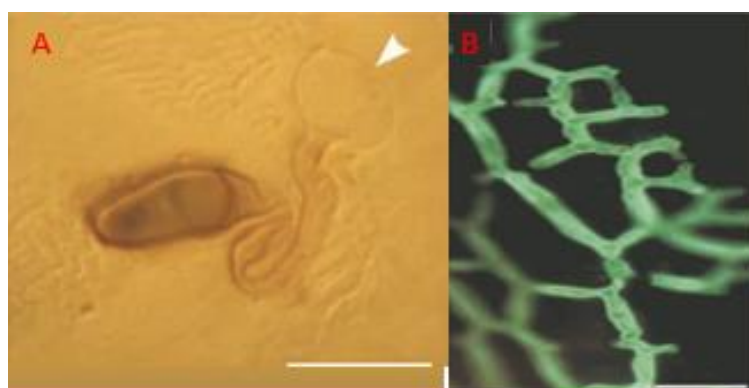
2.1.4. A szőlő *G. bidwellii* általi fertőzése

A *G. bidwellii* sikeres fertőzésének kulcsmozzanata a penetráció, ami közvetlenül a kutikulán keresztül történik az appresszórium közreműködésével (KUO és HOCH 1995). A *G. bidwellii* szőlőszövetbe történő bejutását és a spórák csírázásának folyamatát több kutatócsoport tanulmányozta. A gomba spórák csírázását a növény felületéhez való rögzülése, azaz a szubsztrátummal kialakuló kapcsolódása határozza meg (KUO és HOCH 1996a). A jelenséget a gomba anamorph alakján (*P. ampellicida*) tanulmányozták. Több, más gombához hasonlóan a *P. ampellicida* konídiumai, csírái és az appresszóriumok is extracelluláris mátrixal vannak körbevéve, ami a gazda felismerését és a szubsztrátum kapcsolódását hivatott segíteni (KUO és HOCH 1995). A spóra kapcsolódása enyhén nedves, savas közegben hidrofób szubsztrátum mellett gyorsan (<0.03 mp) végbemegy. SHAW és HOCH (2000) szerint elsősorban a Ca^{2+} ionok jelenléte a meghatározó a csírázásban, mivel fontos szerepük van a csíratömlő és az appresszórium kifejlődésében. SHAW és HOCH (1998) feljegyezték, hogy a konídiumok rögzítését az őket körülvevő ragadós burok és a kapcsolat létrejöttkor kiválasztódott fehérjetartalmú közeg teszi lehetővé, amit a Ca^{2+} és H^{+} ionok nagymértékben segítenek. A mitotikus osztódás a kapcsolat létesítése utáni első fél órában megkezdődik (SHAW és HOCH 1998), az első órában már a csírázást is megfigyelték (KUO és HOCH 1996a). A következő 6 órában a spóra sejtek csúcsi részéhez kapcsolódó csillókat figyeltek meg. Kezdetben a spórák dudorodni kezdtek, amikből 1,5-2 óra alatt 10-30 μm hosszú csíratömlő fejlődött. Metszetek készítésekor figyelték meg, hogy a konídiumok két sejtmaggal rendelkeznek. A csírázás során ezek a csíratömlőbe vándorolnak, ami egy sima pórusú fal, ebből további növekedéssel és a citoplazma átvándorlásával lefűződik, kifejlődik az appresszórium (9/A. ábra). Érésükhöz 5-6 óra szükséges. Mikroszkóp alatt látható, hogy az appresszóriumok 3 sejtmaggal rendelkeznek és azokat a konídiumokhoz hasonlóan egyszerű szerkezetű extracelluláris mátrix veszi körül (SHAW et al. 1998). Mikor a melanizált appresszórium plazma membránja érintkezésbe kerül a növényi szövet felszínével a penetráló pecek növekedésnek indul. Az appresszóriumban oldott anyagok vezetnek végül ahhoz a nagy erejű belső nyomáshoz, amivel képessé válik a gomba áttörni a keményebb növényi sejtfalat is. A gomba mechanikus erővel történő bejutását bizonyították a csírázást követő 24-30 óra elteltével kifejlődő penetráló pecek jelenlétének kimutatásával (SHAW et al. 1998). Legkevesebb 6 óra szükséges ahhoz, hogy a gomba bejusson a növényi szövetbe optimális körülmények között, amint az az 1. táblázatban látható.

1. táblázat Feketerothadás fertőzéshez szükséges levélnedvesség időtartama a hőmérséklet függvényében SPOTTS (1977) tanulmánya alapján.

Hőmérséklet (°C)	Fertőzéshez szükséges idő (óra)
7	nincs fertőzés
10	24
13	12
15,5	9
18,5	8
21	7
24	7
26,5	6
29	9
32	12

Sikeres fertőzés esetén a gomba micélium növekedni kezd. A *G. bidwellii*-re jellemző szerteágazó gombafonalak (9/B. ábra) a megtámadott növényi szövet sejt közötti járataiban terjednek. Hifái képesek áttörni a sejtek falát, kolonizálni a környező sejteket, miközben szigorúan a szubkutikuláris térben maradnak (KUO és HOCH 1996a). Az elhalt sejtek összeesnek és kialakulnak a jellemző tünetek (lásd. 2.3.2. pontban)



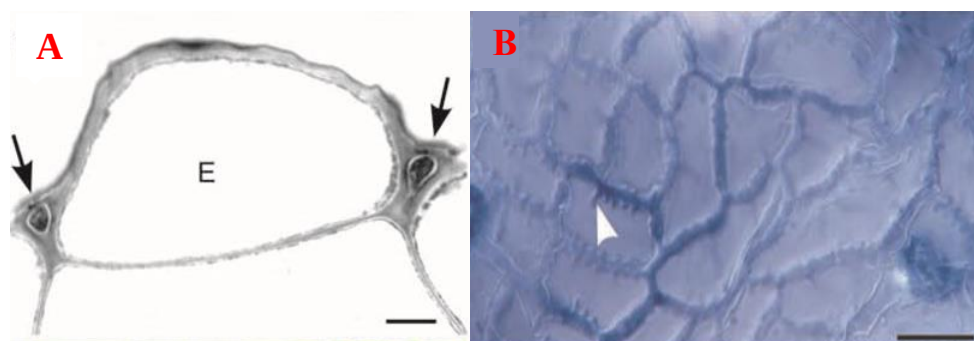
9. ábra A: *G. bidwellii* konídiuma (nyílheggyel jelölve) csírázást követően a belőle fejlődő appresszóriummal; B: A gomba szubkutikuláris hifahálójának részlete anilinkék festéssel (ULLRICH et al. 2009). Méretarány = 20 μ m B; és 10 μ m A.

A feketerothadás gomba hemibiotróf organizmus, fertőzésének lefutása két részre osztható. Az első szakaszban nem látható külső jele a fertőzésnek, amíg az élő sejtek között növekszik és fejlődik a gomba. A fertőzést követő 12-14. naptól a gomba szövetek sűrűbbé válnak, a környező szövetek nekrotizálódnak és a vastag hifa aggregátumokból kialakulnak a piknídiumok (ULLRICH et al. 2009). Ezt követi a második (bomlási) szakasz, amikor a gomba az elhalt, nekrotizált növényi részekben fejlődik tovább (KUO és HOCH 1996a). Tehát a gomba képes endotróf és nekrotrof körülmények között is fennmaradni. A piknídiumok kiemelkednek a növényi szövetből, sűrűn borítva a léziók és a bogyómúmiák felszínét. A vegetáció vége felé a bogyómúmiák felszínén, sűrűn fedve azt, pseudotéciumok alakulnak ki. A tőkén maradó, vagy a

földre hullott múmiákban kifejlődnek az aszkuszok, amelyekben majd az aszkospórák termelődnek (ULLRICH et al. 2009).

2.1.4.1. Mikroszkópos vizsgálatok a gomba csírázásának tanulmányozásában

A gomba fertőzésének folyamatát szubkutikuláris növekedése miatt csak mikroszkóppal lehet nyomon követni. Ehhez különböző időpontokban vett fertőzött szövetek festését és vizsgálatát végezte el Koch professzor és csapata (ULLRICH et al. 2009). A *G. bidwellii* gomba képletei Trypán-kékkel jól festhetőek és normál fénymikroszkóppal vizsgálhatóak. Mélyebb tanulmányozásukhoz a szöveteket anilin kékkel festették meg, és fluoreszcens mikroszkóppal vizsgálták. Kísérleteik során megfigyelték, hogy a fertőzést követően az appressóriumból egy vagy két hifa fejlődött ki az antiklinális epidermisz sejtek fölött. Második naptól látható volt a szubkutikuláris hifa (10/A. ábra), ami 3-4 nap alatt sűrű hifahálóvá növekedett. Hausztórium képződését nem figyelték meg. A hifa intenzíven elágazott, körbevette az epidermisz sejteket, és a csúcsuk újra összenőtt egy tényleges hálót alakítva ki. A hifa átmérője 0,8-1 μm közötti tartományban mozog. A négy napos, érett szubkutikuláris hifa növekedése során megfigyelték ujjszerű, rövid elágazásait az epidermisz sejtek periklinális falában (10/B ábra). A szőlő keresztmetszeti képeken látható a hifa szigorú szubkutikuláris elhelyezkedése. Az inkubációs idő előrehaladtával a negyedik héttől már látni lehetett hifát a kortikus parenchimában az epidermisz alatt, mely a korai szaprofita állapot lehet. A növényi sejtekben a parazita jelenlétében megfigyelték vezikulumok és paramurál testek felhalmozódását a gomba appressóriumainak és hifáinak szomszédságában. Ezt a sejtszintű reakciót a növény védelmi válaszáának tekintik. A konídiumok csírázása és az apressóriumok fejlődése a levelek fonákán és színén egyaránt végbemegy. A hifák jól fejlődtek a levél fonáki epidermisz sejtjei alatt, és az antiklinális sejtek fölött a védő- és segédsejtek közelében.



10. ábra A: Levéllemez keresztmetszet elektronmikroszkópos felvételén látható a *G. bidwellii* szubkutikulárisan növekvő hifáinak (nyíllal jelölve) elhelyezkedése az antiklinális epidermisz sejtek (E) közötti járatokban; B: *G. bidwellii* szubkutikulárisan fejlődött érett hifák (nyílhegy) a sejtek periklinális falán. Méretarány = 2 μm (A) és 20 μm (B). (ULLRICH et al. 2009).

Gyorsabb hifa fejlődést tapasztaltak az erek közelében, feltételezhetően a gyorsabb tápanyagfelvételtől adódóan. A levél korának hatása kimutatható volt a kísérletben. Ugyan a spórák az összes levélen kicsíráztak és appresszóriumot képeztek, de a fiatal leveleken a csíratömlő lényegesen rövidebb marad az idős leveleken tapasztalt igen hosszú csíratömlőkhöz viszonyítva. Fiatal levelekben gyorsabb és fejlettebb hifák növekedését mutatták ki, melyek hosszabbak és szerteágazóbbak voltak, mint az idős levelekben fejlődők (ULLRICH et al. 2009). REX 2012-es dolgozatában szövetfestést követő mikroszkópos vizsgálattal próbálta elkülöníteni a fogékony és ellenálló fajtákat a fertőzést követő korai stádiumban. Metszeteinek értékelésekor a fogékony fajtáknál egyértelműen magasabb arányban csíráztak a konídiumok, majd négy nap elteltével fejlett hifahálót, -szövedéket figyeltek meg. A rezisztens fajták esetében alacsonyabb arányú volt a konídiumok csírázása, és kevesebb appresszórium fejlődött a mintákban.

2.1.4.2. A szőlő feketerothadással szembeni fogékony periódusai

A fiatal, növekvésben lévő, még nem kiterült levelek a legfogékonyabbak a betegségre, és az idő előrehaladtával, valamint a növekedés befejeztével egyre ellenállóbbak lesznek a szövetek. Zsenge, intenzíven növekvő szöveteket ért fertőzéskor a nagy növekedési potenciál miatt a kifejlődő léziók mérete is nagyobb, a hajtáscsúcs kifejlődése során extrém módon fogékony a feketerothadásra. A kifejlett, alsóbb helyzetű (6. nódusz alatti) idősebb levelek ellenállóbbak. Hasonlóan a szőlő lisztharmattal szembeni ontogenetikai rezisztenciájához (GADOURY et al. 2003) a feketerothadás esetében KUO és HOCH (1996b) számoltak be arról, hogy a levelek öregedésével csökkent a tünetek kialakulásának aránya. A levelek fogékonyága csökken a kor előrehaladtával. Tapasztalataik alapján a fogékony/ nem fogékony levelek megnevezés helyett javasolták a kiterült és nem kiterült levelek használatát *V. vinifera* fajták bonitálásakor. Kísérleteikben a már teljesen kiterült levelekre kijuttatott spórák nem tudtak fertőzést kiváltani, a tünetek nem alakultak ki. Ezekben a levelekben a szubkutikuláris hifa hiányát tapasztalták (KUO és HOCH 1996b).

A levelek korának és hajtáson való helyzetüktől függő szerepét a *G. bidwellii* fertőzésekor ULLRICH és mtsai (2009) vizsgálták. Elektronmikroszkópos felvételeiket, melyek a *G. bidwellii* spórák csírázását és hifa növekedést követték nyomon az első és második órában különböző pozíciójú leveleken. Levéllemezek mikroszkópos vizsgálatakor azt tapasztalták, hogy kortól és pozíciótól függetlenül minden levélen a konídiumok kicsíráztak és appresszóriumok is kialakultak. Fiatal, 1-3. helyzetű, leveleken a spórák közvetlenül appresszóriummá fejlődtek, vagy nagyon rövid csíratömlőt növesztettek előtte. Ezzel szemben idősebb, alsóbb helyzetű leveleken a

csíratömlők hosszabbak, változatos méretűek voltak. Emellett a később vett mintákban a szubkutikuláris hifák fejlettebbek voltak a fiatal levelekben az idősebbekhez képest.

A Cornell Egyetem kutatói New York-i ültevényben átfogó fürt fertőzési vizsgálatokat végeztek a fogékonysági idő meghatározásához két egymást követő évben. Kísérletükben *V. vinifera* 'Chardonnay', 'Rajnai rizling' és *V. labrusca* 'Concord' fajták fürtjeit fertőzték meg mesterségesen *G. bidwellii* szuszpenzióval virágzástól kezdve több időpontban. A vizsgálat során mesterségesen segítették a fertőzéshez optimális körülmények kialakulását, és műszerekkel mérték az egyes paramétereket. Fogékony fajtáknál nagyon kritikusnak találták a sapkák lehullását követő 2-3. hetet. Ezt az időszakot tekintik a fogékony periódus kezdetének, ami *V. vinifera* fajták fürtjeinél a virágzás utáni 6-7 hétig tart. A direkttermő 'Concord' szőlőfajtánál a fogékonyság a 3. héttől folyamatosan csökken, 4-5 héttel a virágzás után már a bogyók ellenállóságát tapasztalták (HOFFMAN et al. 2002). FERRIN és RAMSDELL (1978) ezt megelőzően szintén 'Concord' fajtán végzett fürt fogékonysági kísérletet. Szerintük megfigyelhető volt egy fertőzési maximum a középvirágzáskor, ugyanakkor még az ezt követő 10. héten történt fertőzéskor is tapasztaltak tüneteket a 'Concord' fajta egyes bogyóin.

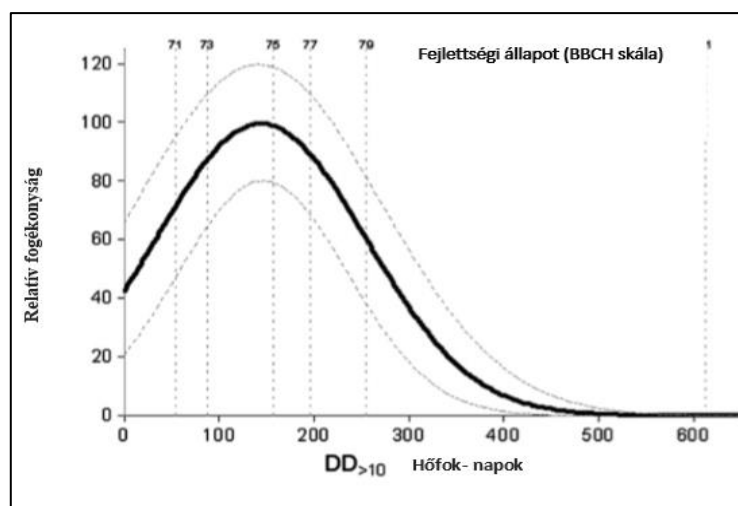
A fogékony periódus hosszára hatással van az időjárás, ugyanis a korrall járó rezisztencia meleg időszakban hamarabb kialakul. A tünetek elsőként a zöldborsó méretű bogyókon jelentkeznek (WILCOX 2003). Mindkét tanulmány beszámol a bogyók egyedfejlődéssel járó rezisztenciájáról, azaz a bogyók öregedésével azonos arányban csökkent a fertőzött bogyók százalékos aránya.

A leveleken és fürtökön kifejlődő feketerothadás tünetek inkubációs idejének hosszát német kutatók vizsgálták. A tünetek kifejlődése a hőmérséklettel áll szoros összefüggésben. Ennek a kapcsolatnak a matematikai leírásához egy, a napi hőösszegek összesítésén alapuló, modellt fejlesztettek ki. A modell szerint az első levél tünetek akkor jelennek meg, amikor a napi átlaghőmérsékletek (6 és 24 °C közötti napokon) összege elér egy bizonyos határértéket, ami 175 hőfok. A fürtök inkubációs ideje a hőmérséklet mellett nagyban függ a fertőzéskori fenológiai stádiumtól (MOLITOR et al. 2012)

A 'Rajnai rizling' fajtán végzett kísérletek alatt megfigyelték, hogy a fürtökön és leveleken az inkubációs időszak összhangban van, amíg a bogyók el nem érik a zsendülési fázist. Ezt követően a folyamat változásai felgyorsulnak. Ezért a bogyók fenológiai stádiumát korrekciós tényezőnek tekintik, amit figyelembe kell venni a tünetek várható kialakulásának meghatározásához a matematikai modellben. Ezek az ismeretek, tapasztalatok hozzájárulnak a feketerothadás fertőzések előrejelezhetőségéhez.

MOLITOR és BERKELMANN-LOEHNERTZ (2011) 2006 és 2008 között beállított fürtfogékonysági vizsgálataik során a bogyók szintén a virágzás utáni első héttől a harmadik hétig terjedő időszakban voltak a legfogékonyabbak, de a fogékony periódusuk kitolódott egyes

fajtáknál a fürtzáródásig. A kísérlet során sikeres fertőzést hajtottak végre a fürtökön már a virágzást megelőző héten kijuttatott spórákkal, ebben az esetben a kórokozó a virágkocsányt támadta meg, aminek következtében a virágok lehullottak. Munkájuk során a 'Rajnai rizling' fajtán hőfokszámítással határozták meg a bogyók fogékonyságának arányát a fenológiai fejlettséget figyelembe véve, amit a 11. ábra szemléltet. A szőlő fenológia fejlettségi állapotát a BBCH skála segítségével adjuk meg, a skála és az egyes számokhoz tartozó állapot leírását az 9.1. melléklet mutatja (LORENZ et al. 1995).



11. ábra A *V. vinifera* L. cv. 'Rajnai rizling' bogyóinak relatív fogékonysága a *Guignardia bidwellii* konídiumaival szemben. A vastag vonal a 90%-os konfidencia intervallum határát jelöli. Az ábrát MOLITOR és BERKELMANN-LOEHNERTZ (2011) publikálta.

2.1.4.3. A tünetek megjelenéséig szükséges inkubációs idő

A tünetek megjelenéséhez szükséges inkubációs idő a hőmérséklettől, a növényi szövet korától és a fertőzés időpontjától függ. A fertőzést követően 14-21 nap elteltével jelennek meg az első tünetek. A hőmérséklet emelkedéssel rövidülhet az inkubációs idő, de a száraz forró időjárás késlelteti vagy megszünteti a tünetek fejlődését. A lédús bogyókon is rövidebb az idő (8-18 nap), mint a leveleken és hajtásokon (10-21 nap). A fogékony periódusuk végén megfertőződő bogyókon a tünetek csak három hét után jelentkeznek, de többségükönél a rothadás csak a negyedik, ötödik héten kezdődik. Általában a feketerothadás fertőzés sikeressége a leveleken (SPOTTIS 1977), szőlő bogyón (MOLITOR 2009) és a vesszőkön (NORTHOVER 2008) nagymértékben függ a hőmérséklettől és a nedves periódus tartósságától. Ebből következik, hogy a feketerothadás fertőzést előre lehet jelezni (nincs fertőzés, alacsony fertőzőési szint, magas fertőzőési szint).

2.1.4.4. *G. bidwellii* patogenitása

G. bidwellii elsődleges gazdanövényeinek a *V. vinifera* fajták, a *V. labrusca*, *V. arizonica* és *M. rotundifolia* fajok számítanak, míg másodlagos gazdaként szerepelnek a *Cissus*, *Parthenocissus*

és *Ampelopsis* fajok (ALEXOPOULUS 1966; SIVANESAN és HOLLIDAY 1981). Luttrell (LUTTRELL 1974; LUTTRELL 1948) tanulmányozta a *G. bidwellii* élettani tulajdonságait és különböző szőlő fajok reakcióit a gomba fertőzésére. Ezek alapján 3 forma specialis, azaz más növényfajokat fertőző változat elkülönítését javasolta. A 3 forma a következő:

1. *G. bidwellii* f. sp. *euvitis* Luttrell: ez a rassa a gombának a *vinifera* szőlők valamennyi fajtáján képes különböző erősségű levél és fűrtkárokat okozni.

2. *G. bidwellii* f. sp. *muscadinii* Luttrell: az amerikai kontinensen található valamennyi vad *Vitis* fajt és *M. rotundifolia* genotípust képes fertőzni, de erőssége alacsonyabb az *euvitis* formához képest.

3. *G. bidwellii* f. sp. *parthenocissi* Luttrell: elsősorban a *Parthenocissus* genotípusokat fertőzi

A *muscadinii* törzs megjelenésében és növekedési rátájában eltér az *euvitis* formától, nemcsak patogenitásában. Jabco és mtsai (JABCO et al. 1985) *euvitis* és *muscadinii* formákkal külön-külön is végeztek feketerothadás tesztelést egyes fajtákon. Vizsgálataik alapján megállapították, hogy a *G. bidwellii* f. sp. *muscadinii* képes a legtöbb szőlő genotípust (*V. labrusca*), franko-amerikai hibridet és *M. rotundifolia* fajtákat megfertőzni, de a fertőzés mértéke gyengébb volt, mint az *euvitis* formával történő kísérletekben.

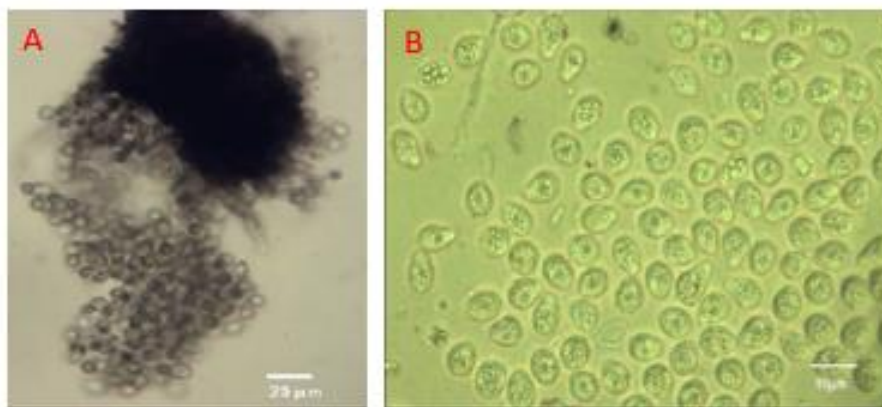
2.1.4.5. Járványtani kutatások

Az első *G. bidwellii* járványtanával foglalkozó vizsgálatokat REDDICK (1911) végezte. Kutatásai során megállapította, hogy a vízfelvételt követő nyomásváltozás hatására nagy erővel lökődnek ki a spórák az aszkuszból. FERRIN és RAMSDELL (1977) tovább vizsgálta az aszkospórák kiszabadulásának feltételeit. Szerintük a termőtestekben már 0,3 mm eső kiváltja a szükséges nyomásváltozást. Az aszkospóra szóródását az eső és a szél szabályozzák. Korlátozott fertőzést figyeltek meg 25 mm csapadék hullásakor. Általában az aszkospórák kiszabadulása egybeesik a szőlő korai virágzásával, majd a bogyók fogékony periódusával is. Optimálisak a levélfertőzéshez a feltételek 6 órán át tartó nedvesség és 26,5 °C körüli hőmérséklet esetén. Ilyenkor a spórák hamar bejutnak a növényi szövetekbe, és létrehozzák a tipikus feketerothadás tüneteket, azokban kifejlődnek a piknídiumok, és nagymennyiségű konídium képződik. A konídiumok kiszabadulásának feltételei közel azonosak az aszkospórákéhoz, csak azok a piknídiumból fehér hialin cirruson keresztül préselődnek ki, és gyorsabb csírázásra képesek, mint az aszkospórák. A konídiumok maximális termelődése a teljes virágzást követően zajlik, amikor a szőlő bogyók fiatalok, és még fogékonyabbak a fertőzésre (FERRIN és RAMSDELL 1978). SPOTTS (1980)

vizsgálta a hőmérséklet és páratartalom hatását az inkubációs időre és a piknídiumok kialakulására. Az inkubációs idő klímaszobában 13 és fél nap volt 15 °C-on és 7 és fél nap 21 és 26.5 °C-on. A piknídiumok kialakulásához 19 nap kellett 15 °C-on és csak 12 nap 26 °C-on. Szabadföldi megfigyelések szerint az inkubációs idő 19-24 °C-os átlaghőmérsékleten 8-12 nap. A piknídiumok fejlődéséhez 12-16 napra volt szükség. A relatív páratartalomnak nem volt észlelhető hatása az inkubációs időre és a piknídiumok kialakulására. Klímaszobai körülmények között TRUXALL (1995) tanulmányozta a konídiumok, mint másodlagos inokulumok mennyiségét a levélfoltokban, és azok fertőzési kockázatát. Kísérletei alátámasztották a hőmérséklet jelentőségét a lappangási periódusban, a konídiumok fejlődéséhez 22-26 °C közötti hőmérséklet volt optimális. Az ismétlődő nedves periódusok száma akár 10%-kal csökkentette a levélfoltok piknídiumainak sporulációját. Az egyes léziókból kinyert konídiumok mennyisége: 3×10^5 és 5×10^5 konidium/ml között mozgott. NORTHOVER (1998) szabadföldön végzett hasonló kísérletei alatt azt tapasztalta, hogy a 3. nedves periódust követően 20%-kal csökkent a sporuláció. JERMINI és GESSLER (1996) arról számolt be, hogy a legnagyobb arányú levélfertőzést a másodlagos inokulum okozza a nyár során. A tünetes levelek foltjaiban fejlődő konídiumok indítják a bogyók fertőzését, mikor kb. 1 cm átmérőjűek. LUTTRELL (1946) jegyezte fel *muscadinia* szőlőn (*M. rotundifolia*) elsőként a hajtásokon és vesszőkön kialakult foltok jelentőségét, mint a *G. bidwellii* fertőzési inokulum forrását. BECKER és PEARSON (1996) tanulmányozták, hogy a feketerothadás terjedésében milyen szerepet játszanak a tőkén maradt fertőzött 1 és 2 éves vesszők. Ennek vizsgálatához rügyfakadástól a szüretig 7 időpontban gyűjtöttek be tünetes vesszőket *V. vinifera* egyedekről és amerikai hibridekről ('Aurora' és 'Delaware'). A léziókat 1 ml vízzel árasztották el, majd a szuszpenzióban számolták meg a konídiumokat. Az egy és két éves vesszők lézióiban található konídiumok száma között nem találtak kimutatható különbséget. Beszámoltak azonban arról, hogy tavasszal a fertőzött vesszők foltjaiban megközelítőleg 8000 konidium található, míg ez a szám őszi 1000 konidium/foltra csökkent. Ezzel szemben az 'Aurora' és 'Delaware' fajták vesszőinek foltjaiban 250-900 db konidiumot számoltak mindössze. Földön hagyott áttelelt bogyómúmiáknak a tavaszi fertőzés indításában való szerepét is vizsgálták, hasonló módszerrel. Reddick már korábban beszámolt arról, hogy a bogyómúmiák az elsődleges fertőzés forrásai, majd később sikeresen mutatták ki az aszkospórák jelenlétét egyéves feketerothadás múmiákból a rügyfakadástól a virágzást követő második hónapig (REDDICK 1911; FERRIN és RAMSDELL 1977). Az elárasztott bogyómúmiákban 25.000-100.000 közötti aszkospórát számoltak.

2.1.5. A *G. bidwellii* tenyészetek *in vitro* fenntartása

A *G. bidwellii* hemibiotróf gomba, ami azt jelenti, hogy élő növényi szervezetben és elhalt részekben is képes fennmaradni és szaporodni. Ennek következtében laboratóriumi körülmények között táptalajon fenntartható. A gomba *in vitro* fenntartásához és optimális növekedéséhez szükséges tápanyagokat és egyéb tényezőket Caltrider tanulmányozta elsőként. Megállapításai szerint a piknídiumok és konídiumok termelődése hatékonyabb 25 °C-on, ezzel szemben a spermatiaák 30 °C-on fejlődnek jobban. A folyamatos megvilágítás nagyban növelte a konídiumok fejlődését a gombatelepeken. UV fénnel való megvilágításnak nem voltak kimutatható hatásai a konídiumok fejlődésére (CALTRIDER 1961). A gomba teljes fejlődési- és életciklusát elsőként sikerült megfigyelnie *in vitro* kísérleteiben. A különböző növényekről begyűjtött izolátumok peritéciumaiban található aszkospóráinak tanulmányozását követően jelentette ki JAILLOUX (1992), hogy a *G. bidwellii* homotallikus gomba. Azaz egy spórából kifejlődik valamennyi ellentétes nemű hifa, és a keletkező aszkospórák azonos értékűek, nem figyelt meg többféle párosodási típust. JAILLOUX (1992) elsőként számolt be pszeudotéciumok formálódásáról *G. bidwellii* táptalajon fejlődő telepeinél. Ezt aktív micélium növekedési szakaszban figyelte meg, amikor két hétig sötétben és 25 °C-on tartotta a tenyészeteket. Hideghatásra az aszkospórák érését lehet indukálni. JANEX-FAVRE és mtsai (1993) vizsgálták a piknídiumok *in vitro* egyedfejlődését mikroszkóp segítségével. Négy egymást követő jól elkülöníthető fejlődési fázist írtak le: 1) az őscsomó kialakulása; 2) a tömör piknídiumos őscsomó állapot; 3) feketetést formálódása és növekedése; 4) a konídiumok genezise és a piknídiumok felhasadása. REDDICK (1911) korábban megfigyelte már ezeket a stádiumokat szőlő bogyókon és leveleken, de eredményei felszerelés hiányában nem voltak ellenőrizhetőek. Összevetve észrevételeiket nem tapasztaltak sok eltérést az *in vitro* és *in vivo* növekedés között, *in vitro* kultúrákban azonban elsőként a sztróma struktúra képződött a piknídium körül, a gazdasejt felszínének pótlására (JANEX-FAVRE et al. 1993) Az érett piknídiumok szerveződése hasonló a többi *Sphaeropsidales* rendbe tartozó gombákéhoz. JANEX-FAVRE és mtsai (1996) néhány évvel később részletesen beszámolt a *G. bidwellii* pszeudotéciumainak fejlődéséről *in vitro* telepeken. Itt 5 elkülönülő stádiumot említett: 1) a fiatal termőközpont fejlődése; 2) az aszkogónium formálódása; 3) az üreg képződése; 4) a fiatal aszkospóra fázis és 5) az aszkospórák érése.



12. ábra $\frac{1}{2}$ PDA táptalajon nevelt 15 napos *Guignardia bidwellii* piknidiuma a kiszabaduló konídiumokkal (A) és a telepről lemosott szabad konídiumai (B) (M. Sosnowski felvétele in KONG 2009).

A feketerothadás gomba *in vitro* fenntartásának alapja a megfelelő összetételű táptalaj. Kezdetben az általánosan használt zablisztes Oatmeal agaron (CALTRIDER 1960) és a feles erősségű burgonya keményítős (1/2 PDA) táptalajon (12. ábra) tartották fent a gombát. Az első kísérletek a tenyészetek megvilágításának optimalizálását célozták. Kipróbálták a sima fehér fénnel történő világítást, a váltott 16-8 órás (fekete (UVA) és fehérfényű) megvilágítást és a folytonos fekete és fehér fényt kombináló megvilágítást. A legnagyobb mennyiségű kitermelhető konídium szuszpenziót a zablisztes táptalaj adta, amikor a fekete és fehér fényt együttesen alkalmazták. Az optimális hőmérséklet eléréséhez az állandó 25 °C-t tartották (LOSKILL et al. 2009). Ezt követően megjelent egy ausztrál tanulmány, melynek keretében három táptalajt hasonlítottak össze a *G. bidwellii* gombatelepek értékelésével. A kísérlethez feles burgonyakeményítő alapú, egy maláta agart tartalmazó és egy zablisztes táptalajon tenyésztették a gombát, ehhez 25 °C-t és folyamatos fluoreszcens megvilágítást biztosítottak. Eredményként azt kapták, hogy a maláta agaros táptalajon növekedett a legkisebb mértékben a gomba, majd egy ponton (15. nap) megrekedt a növekedése. A zablisztes és burgonyakeményítős táptalajon a gomba megközelítőleg azonos mértékben növekedett, sporulációjuk szintje változó, de kielégítő mértékű volt (KONG 2009). A táptalajon növő micéliumokról leszűretelt konídium szuszpenzió 4 °C-on tárolva 14 napig megőrizte fertőzőképességét (REX et al. 2014).

2.2. Feketerothadással szembeni védekezés lehetőségei

Mivel a feketerothadás új kórokozónak számít a magyarországi szőlőültetvényekben, ezért az ellene való védekezés hazai tapasztalatok hiányában külföldi mintára épül. Amerikai, német és olasz megfigyelésekre, kutatási eredményekre alapozva az agrotechnikai és kémiai védekezési módok összehangolt integrált használatával rutinszerűen és hatékonyan védekezhetünk. A

beavatkozásoknak megelőző jellege fontos a járványok elkerülése és a fertőzőanyag felhalmozódás megakadályozása miatt.

2.2.1. Agrotechnikai eljárások a feketerothadással szembeni védelemben

A feketerothadás fertőzések visszaszorításához a helyes termesztéstechnológia megválasztásával hatékonyan védekezhetünk. Mivel az elsődleges fertőzésekért felelős aszkospórák és konídiumok a bogyómúmiákban (ONESTI et al. 2017) telelnek át, ezért az előző évi bogyómúmiák eltávolítása az ültetvényekben jelentősen csökkenti a fertőzőanyag mennyiségét. A fertőzött fás részek lemetszésével szintén mérsékelhetjük a tavaszi elsődleges fertőzést indító konídiumok számát (NORTHOVER 2008). A fertőzött növényi részek megsemmisítése kulcsfontosságú a védelem során. Ez történhet 10-20 cm mély talajba forgatással vagy a metszési hulladék elégetésével (DULA 2012). A fürtök védelmét fokozhatjuk a kellő időben elvégzett zöldmunkával. A betegség elkerüléséhez elengedhetetlen a szellős, vékony lombfal kialakítása. Ilyenkor a levelek száradása gyorsabb, ami nem kedvez a gomba fertőzésének. Hajtásválogatás során érdemes leválogatni a tünetes, fertőzött leveleket, ezáltal is gyéríteni a további fertőzések esélyét. Az ültetvényben a relatív páratartalom csökkenthető a talajtakaró növények alacsonyan tartásával, és a soralkak gyomtalanításával. Érdemes kerülni a túlzott nitrogénpótlást, hogy mérsékeljük a vegetatív részek túlzott gyarapodását.

2.2.2. Kémiai növényvédelem lehetőségei a feketerothadással szemben

A feketerothadás elleni védekezés elsősorban a növényvédőszeres használatára épül. A gombölő szerek hatékonyságának tesztelése napjainkban is zajlik a különböző klímájú szőlőültetvényekben. Az időjárási feltételektől függően a hatóanyagok kijuttatását célszerű megkezdeni az 5-7. kiterült levelek megjelenésekor (HARMS et al. 2005). A kezeléseket a hőmérséklettől és a csapadék eloszlásától függően kell ismételni. Párás körülmények között a 12-14 napos fordulót javasolják (TOMOIAGA és COMSA 2010). A permetezések során elsődleges a fürtök védelme. A bogyók védelmében kulcsfontosságú a virágzáskor elvégzett permetezés. Ezt követően, amíg a fürtök fogékony állapotúak, a virágzást követő 6-7. hétig célszerű folytatni a kezeléseket, egyes fajtáknál ez az időszak akár a 10. hétre is kitolódhat (HOFFMAN et al. 2002). Védekezésre több nagy hatóanyag csoport használható, melyek jól ismertek és széleskörűen alkalmazottak szőlő peronoszpóra és/vagy lisztharmat ellen (HARMS et al. 2005). Ezek a hagyományos feketerothadással szemben is hatékony szerek a kórokozót eddig az észlelési szint alatt tartották. Az első csoport az általában magas hatékonyságot adó ditiokarbamátokaté pl. a mankoceb hatóanyagú (Dithane DG Neo-Tec, Dithane M45, Indofil M-45), és a metiram hatóanyagú (Polyram DF) készítmények (CORNELL 2001).

A második csoportot a kórfolyamatok és tünetek kialakulását blokkoló szterolgátló vegyületek alkotják. A miklobutanil (Systhane 20 EW, Rally Q SC), a tebukonazol (Falcon 460 EC, Folicur Solo, Flint max, Mystic 250 EC, Riza 250 EW) és a difenokonazol (Dynali) hatóanyaggal rendelkező szerekre a gyors felszívódás jellemző. Kijuttatásukat a fertőzést követően az inkubációs idő elejére érdemes időzíteni a fürtök és levelek védelmében (HOFFMAN et al. 2004). A harmadik szercsoport a sztrobilurinok közül a piraklosztrobin (Cabrio Top), ami bizonyított kiváló preventív és hosszú kuratív hatást biztosít levélen és fürtön is feketetrohadással szemben. A szer a virágsapkák lehullását követően kijuttatva hatékonyan kötődik a növényi viaszréteghez és sokáig megőrzi hatástartamát.

A negyedik csoportba a boszkalid hatóanyagú szerek tartoznak, mint a Cantus és Collis SC, ezek esetében bizonyított a feketetrohadás elleni jó mellékhatás (MOLITOR et al. 2011).

Ötödik csoportba sorolhatjuk a növénykondicionáló szereket, mint például a foszfonátokat (Delan pro), melyek az indukált rezisztenciáért felelnek. A felsorolt első három szercsoport nagyon hatékony a betegséggel szemben. Kísérletekben bizonyították ezen szerek használatakor a fürtök 77-100%-os védelmét (HARMS et al. 2005). A feketetrohadás elleni védelemben egy vegetáció során Amerikában általában 7-8 kezelést alkalmaznak, május közepétől augusztus közepéig (HOFFMAN és WILCOX 2002). A szőlő feketetrohadással szembeni ontogenetikai rezisztenciájának köszönhetően augusztustól már nincs szükség vegyszeres kezelésre.

A pontos és tudatos védekezéshez szükségesek a hazai növényvédelmi tapasztalatok és megfigyelések, valamint hatásvizsgálatok. Jelenleg négy készítmény hatályos engedélyokiratában szerepel a szőlő feketetrohadás elleni hatásspektrum, ezek a Dynali, Mystic 250 EW, Systhane 20 EW és a Delan pro. A kijuttatott vegyszerek mennyisége nagymértékben csökkenthető a feketetrohadás fertőzések pontos előrejelzésével. A légtérben az aszkospórák és konídiumok időbeni változását (dinamikáját) spóra csapdák alkalmazásával követhetjük nyomon (ONESTI et al. 2017). MOLITOR és mtsai (2015) által kifejlesztett előrejelzési rendszer, mely döntést segítő alkalmazással kombinálták és a VitiMeteo Black Rot nevet kapta. A program figyelembe veszi már a fertőzés súlyosságát, a hőmérséklet és fenológiai fejlettség inkubációs időre gyakorolt hatását. Hazánkban a BASF által működtetett előrejelzési rendszer nyújt értékes információt a feketetrohadás fertőzések előrejelzéséhez.

2.2.3. Biológiai védekezés a feketetrohadással szemben

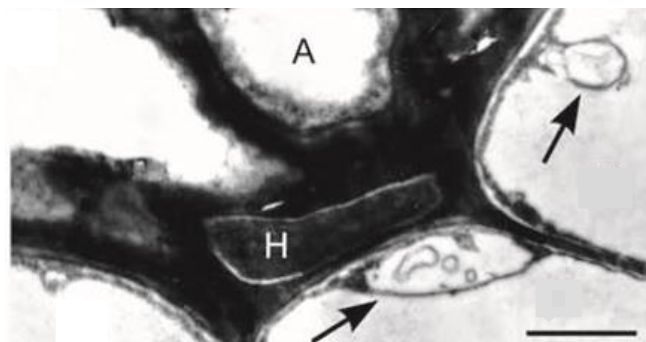
Az ökológiai gazdálkodásokban, ahol korlátozott a védekezéshez felhasználható szerek listája, komoly odafigyelést igényel a fertőzés megelőzése és a kórokozó spóráinak limitálása a megfelelő agro- és fitotechnikai munkákkal, vagy ellenálló fajták telepítésével. Organikus ültetvényekben még a hetente kijuttatott kén és réz készítmények sem kielégítően hatékonyak a feketetrohadás

fertőzés megfékezésére (HARMS et al. 2005; LOSKILL et al. 2009). A réz használatát mára számottevően korlátozták a talajban levő nagymértékű felhalmozódása miatt. Mind a réz, mind a kén környezetre és emberi egészségre gyakorolt hosszú távú hatását még vizsgálják. Kutatócsoportok vizsgálják az ökológiai gazdálkodásokban alkalmazható vegyszeres növényvédelem alternatíváit, különböző mikroorganizmusokat vagy azok metabolitjait, egyéb növényi kivonatokat vagy más természetes eredetű anyagokat, melyek gombaölő hatással rendelkeznek. Sokoldalú és érdekes csoportját képezik az antimikrobiális anyagoknak a szaponin tartalmú természetes termékek. Miután több esetben kimutatták a szaponinok növényekben való jelenlétének kapcsolatát a patogénnel szembeni rezisztenciával (SCHÖNBECK és SCHLÖSSER 1976). Elsőként *Yucca schidigera* kivonatának feketerothadással szembeni aktivitását mutatták ki cserepes szőlőnövények vizsgálatával (TRAVIS et al. 2005), ezt követően MOLITOR és mtsai (2010) számoltak be a kínai szappanfa kivonat hatékonyságáról szőlőnél. KOCH munkatársaival (2013) végzett kísérleteiben a *Hedera helix* és *Primula* gyökérkivonatának hatékonyságát bizonyították szőlő feketerothadással szemben. A *Primula* kivonat erősebb gátlószintet mutatott, teljesen gátolta a konídiumok szőlőlevélen való csírázását, hasonlóan a Polyram ©WG szerhez. Üvegházi körülmények között 90% feletti hatékonyságát bizonyították mindkét növény alkoholos gyökérkivonatának 1 és 0,5%-os koncentrációban.

2.3. Feketerothadással szembeni védekezési mechanizmusok szőlőnövény esetében

A szőlő és az őt megtámadó kórokozók között interaktív, összetett biológiai kapcsolat áll fenn. Ennek keretében egymással összefüggő és több szinten futó folyamatok zajlanak a növényben a támadást indító patogénnel szemben. A feketerothadás gomba ellen a szőlőben lejátszódó védelmi mechanizmusokról máig csak kevés megalapozott információnk van, ugyanakkor a lisztharmat, peronoszpóra és botritisz fertőzésekre adott szőlő válaszütemeket sokat tanulmányozták a kutatók, amikből értékes következtetések vonhatóak le. Annyi már bizonyított, hogy az egyes növényi szerveknek korral járó/ontogenetikus rezisztenciájuk van. Vagyis a levelek és hajtások az idő múlásával folyamatosan veszítenek fogékonyságukból és a szövetek egyre ellenállóbbá válnak a kórokozóval szemben. A szőlőnél passzív védelmi akadályként szolgál a *G. bidwellii*-vel szemben a levélszőrök növekedése a vegetáció során, ami megnehezíti a gomba spórák kapcsolódását a levél felszínéhez, ezáltal megakadályozva a csírázásukat (KUO és HOCH 1996a). Azonban a sikeresen megtapadt és kicsírázott spórákból kifejlődik az appresszorium, amit a gomba táplálékszerzéshez és a penetráló hifák fejlesztéséhez használ. A kutikulán átnövő és az antiklinális sejtek között megjelenő elsődleges hifák a növény sikeres parazitálását jelzik (KOCH et al. 2005). A *G. bidwellii* gomba konídium csírázásának mikroszkópos megfigyelése során a fertőzött szövetben az appresszoriumok és a fejlődő hifák szomszédságában vezikulumok és paramurál

testek jelentek meg (13. ábra). Mindkét reakciót a növény védekezési válaszának tulajdonítják a parazita jelenlétére.



13. ábra A *Guignardia bidwellii* apresszorium (A) és fejlődő hifáinak (H) környékén felhalmozódó paramurál testek és vezikulumok (nyíllal jelölve) szőlő levél elektronmikroszkópos felvételén. Méretarány= 2 μ m (ULLRICH et al. 2009)

Emellett megfigyelték feketerothadás támadásakor a szőlő fiziológiai értelemben megnövekedett védelmi kapacitását, ami dinamikusan működő, szabályozható védelmi rendszert alkot. Az egyik ilyen leírt jelenség a cukrok felhalmozása a fertőzés helyén, ami lassítja a *G. bidwellii* micélium növekedését és terjedését a szövetekben. Ez a magyarázata annak, hogy zsendüléstől/az érés kezdetétől a bogyók már nem fogékonyak a betegségre (SALZMAN et al. 1998). Feltételezések szerint a cukrok termelődése kezdetben kedvez a gomba növekedésének, majd mikor elér egy kritikus pontot a cukor koncentrációja a sejtben, akkor a védekezésben szerepet játszó gének expresszióját beindítja és állandósítja a termelt fehérje szintet. Ennek következtében fitoalexinek, thaumatin-szerű fehérjék és a kitinázok halmozódnak fel (SALZMAN et al. 1998). A fitoalexinek bioszintézise a fertőzés helyére, vagy közvetlen közelére korlátozódik. Szőlő fitoalexinek bioszintézisének kulcsenzime a sztilbén szintáz. Közel 32 funkcióképes sztilbén-szintáz gént azonosítottak (WANG et al. 2016). A szőlő legfontosabb fitoalexinjei a sztilbének csoportjába tartozó vegyületek. Sztilbén vegyületek közé tartozik a rezveratrol, piceid (t-rezveratrol-glükózid), pterostilbén és a rezveratrol oligomerjei, a különböző viniferinek (ϵ -viniferin, ω -viniferin, r2-viniferin és r-viniferin) (GABASTON et al. 2017). A fitoalexinek patogénekre mérgező hatása és a rezisztencia közötti kapcsolatot már többször bizonyították (ALONSO-VILLAYERDE et al. 2011). Az elmúlt 20-30 évben több publikáció született arról, hogy genetikai módosításokkal sikeresen emelték különböző szőlőfajták leveleiben a sztilbén vegyületek koncentrációját, ezzel gátolva a patogén gombák növekedését (JEANDET et al. 2002).

A SZIE Szőlészeti Tanszékének kutatásaiban (DEÁK et al. 2018) vizsgálták mesterségesen fertőzött fogékony és rezisztens szőlőfajták transzkriptom szintű válaszát feketerothadást okozó *G. bidwellii*-vel szemben. Újgenerációs technológián (mRNS szekvenálás) alapuló eredményeik szerint a gomba támadására rezisztens 'Csillám' fajta és a fogékony 'Csaba gyöngye' fajta

génműködésében találtak eltérést. Azonosítottak olyan sztilbén szintáz géneket, melyek alaphelyzetben csak a 'Csillám' fajtában működtek, míg 'Csaba gyöngye' fajtánál csak a fertőzés hatására aktivizálódtak. Ebből arra következtettek, hogy a 'Csillám' fajta kiemelkedő feketerothadás rezisztenciájának egyik fontos eleme a sztilbén szintézise.

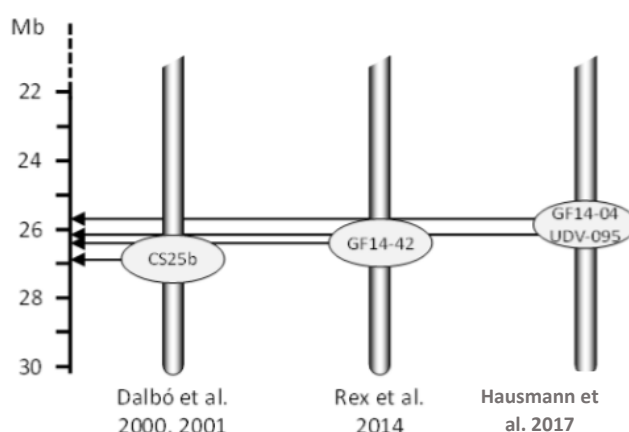
Ezen kutatások is alátámasztják a fitoalexinek kevésbé specifikus biocid hatását, mely a gombák és baktériumok széles körével szembeni hatékonyságát mutatja, mely megelőzésszerű védelmet biztosíthat más korábban kisebb gazdasági károkat okozó kórokozóval szemben. Ez a típusú ellenállóképesség azonban önmagában nem elegendő a folyton alkalmazkodó kórokozókkal szembeni védelemben, kombinálni kell az evolúciósan fejlettebb rezisztencia génekre és génanalógokra fókuszált rezisztenciával.

A feketerothadás gomba által kiváltott szőlő védelmi mechanizmusokat még nem ismerjük. A rezisztenciáért felelős QTL-k azonosításával lehetővé válik a rezisztencia lókuszok vizsgálata a referencia genomhoz viszonyítva. A QTL-régiók szekvenálásával és az azt követő génannotáció adatainak elemzésével nyomon követhetőek a védekező mechanizmusban jelentős szerepet játszó gének.

2.3.1. Feketerothadás rezisztencia faktorok azonosítása

A nemesítési munkák sikerességéhez hozzájárul, hogy egyre több rezisztencia gén pontos helyét és szekvenciáját sikerül meghatározni molekuláris térképezéssel. A feketerothadás rezisztenciát meghatározó faktorok azonosításával Németországban kezdtek elsőként foglalkozni Európában, mintegy 7-8 évvel ezelőtt. Az első tanulmányt REX adta közzé 2012-ben, melyben sikeresen bizonyította a 'Börner' fajtában a feketerothadás rezisztencia QTL-k jelenlétét. Ezeket a QTL-eket a 14-es és 16-os kromoszómán helyezték el térképezés segítségével, majd közeli kapcsolt markerek fejlesztésébe kezdtek. A munka során a *G. bidwellii* gombával fertőzték a térképezési családot, amit egy fogékony *V. vinifera* hibrid, a 'V3125' ('Schiava grossa' x 'Rajnai rizling') és az ismert rezisztens 'Börner' keresztezéséből állítottak elő. A fő QTL-t az elvégzett hat független rezisztencia tesztelés és egy szabadföldi fertőzés alapján szerkesztett genetikai térképen mutatták ki. A QTL a 14-es kapcsoltsági csoportban helyezkedik el (*Rgb1*) és a 21,8% -ban magyarázza a fenotípusos variációt (LOD 10.5). Egy másik tartós QTL-t is térképeztek a 16-os kapcsoltsági csoportra (*Rgb2*; LOD 4.2), ami 8,5%-át magyarázza a fenotípusban megmutatkozó varianciának. Ez a két QTL együtt a többi kis QTL-lel, amit a térképezési családban megfigyeltek arra enged következtetni, hogy az ellenálló 'Börner' poligénes rezisztenciával rendelkezik a feketerothadás szemben. A részletes genetikai térképen az *Rgb1* lókusz és a közeli kapcsolt markerek értékesek lehetnek a szelekció során (MAS) nemesítéskor (REX et al. 2014). A feketerothadás rezisztencia genetikai alapjainak tanulmányozásához és marker-alapú szelekcióhoz szorosan kapcsolt

markerek fejlesztéséhez Geilweilerhofban 2017-ben egy másik hibridcsaládot is elemeztek. A tesztelésekhez a GF.GA-47-42 és 'Villard blanc' korábbi években feketerothadás ellenállónak (HAUSMANN et al. 2017) értékelt fajták keresztezéséből származó 151 magoncot használták fel. A bonitálási adatok és az aktuális FECHTER és mtsai félé (2014) szőlő géntérképekre alapozva QTL analízist végeztek. Első eredményként hét rezisztencia lókuszt találtak elszórtan a teljes genomban. A fő QTL-t a 14-es kromoszómára térképezték, valamint két kapcsolt markert is (Gf14-04 és UDV095) fejlesztettek. Az ismertetett két mű alátámasztja, hogy a 14. kromoszóma 25,8-27,0 Mb-ig terjedő régiója nagy jelentőségű a feketerothadás rezisztenciában (14. ábra).



14. ábra Vázlatos áttekintése a feketerothadás rezisztencia 14. kromoszómájára térképezett fő QTL elhelyezkedésének (DALBO et al. 2001 és HAUSMANN et al. 2017 nyomán)

2.4. Szőlő rezisztencianemesítése

Az Európai Unió a közelmúltban célul tűzte ki a növényvédő szerek és azon belül is a réz tartalmú szerek mennyiségének csökkentését a szőlőkultúrákban (ROUSSEAU et al. 2013). A szőlő védelmét szolgáltató kémiai kezelések miatt a szermaradványok humán egészségügyi, valamint gazdasági és környezetvédelmi kockázatot jelentenek. Így a kórokozóknak ellenálló szőlőfajták nemesítése kiemelt szerepet játszik a növény nemesítési munka során. A szőlő rezisztencia nemesítése Amerikában indult, mivel a telepesek által behozott kiváló aromájú bort adó *V. vinifera* fajták fogékonyak bizonyultak az ott őshonos kórokozókkal, kártevőkkel, szemben (filoxéra, lisztharmat, peronoszpóra, feketerothadás). A helyzet megoldására a területen őshonos, ezen betegségeknek ellenálló *Vitis* fajok szelektált változatait, majd az amerikai fajok egymás közötti keresztezéseiből szelektált ellenálló változatokat szaporították. A Harvard Egyetem kutatói 1822-ben felvetették a fogékony, de jó minőségű *V. vinifera* fajták őshonos amerikai fajokkal (*V. aestivalis*, *V. labrusca*, *V. riparia*, *V. rupestris*, *V. monticola*) történő keresztezésének ötletét, miután felfedezték azok ellenállóságát (CATTELL és MILLER 1980). A következő évtizedekben sorra állították elő az új fajtákat. Ezen időszakban az USA-ban előállított fajtákat, összefoglalóan,

amerikai hibrideknek nevezzük. Ezek közül számos olyan fajta ismert, melyek a filoxérával szemben magas fokú rezisztenciával rendelkeznek, ezért saját gyökéren is termeszthetők, innen másik elnevezésük, a direkttermő kifejezés. Európában, hazánkban is, széles körben terjedtek a direkttermő szőlők, mint 'Herbemont', 'Concord', 'Isabella', 'Noah', 'Taylor' és 'Othello', (REYNOLDS 2015).

Európában a 19. század második felében kezdődtek meg a nemesítési munkák, miután az Amerikából érkező szőlővesszőkkel együtt áthurcolták az ottani őshonos betegségeket. A szőlőnemesítés két irányban indult meg. Az egyik oldalon a filoxéra problémájának leküzdése, az alanynemesítés állt, melyhez észak-amerikai vad fajokat használtak fel elsősorban a *V. rupestris*, *V. riparia*, *V. berlandieri* és *V. cinerea*. A filoxéra kártételének megfékezése a magyar Teleki Zsigmond és Teleki Sándor, valamint Kober, Fuhr, Paulsen nevével fémjelzett, az 1800-as évek végén és az 1900-as évek elején nemesített alanyfajták előállításának köszönhető. A mai napig világszerte használatban lévő alanyfajták 90%-át tíz fajta alkotja, melyek fele a Teleki-Kober vonalból származik (REYNOLDS 2015).

A nemesítés másik irányát az észak-amerikai eredetű betegségeknek (lisztharmat, peronoszpóra) ellenálló nemes fajták előállítása adta (GALET 1988). Ez a korszak Franciaország magánnemesítői által lett sikeres. Bőtermő és 'idegen ízeztől' mentes szőlőfajták előállítása volt a cél. Rezisztencia forrásként Észak-Amerikában őshonos *V. rupestris*, *V. aestivalis*, *V. lincecumii*, *V. cinerea* és *V. labrusca* fajokat használták. Több nemesítő neve fémjelzi ezt a korszakot (Gaillard, Seyve, Seibel, Couderc, Kuhlmann, Baco, Villard). Munkájuk során különböző keresztezési partnerek felhasználásával 1000-nél is több interspecifikus (amerikai x európai) hibridet állítottak elő, majd szelektáltak minőségre és ellenállóságra. Ezeket a hibrideket nevezzük franko-amerikai hibrideknek is. Az 1950-es évek elején 400.000 ha-nál is nagyobb területet foglaltak el Franciaországban ezek a hibridek. A hibridek a nemesítők neve és különböző kódszámok alapján terjedtek el. Ismertebbek a 'Couderc 503' (Százszoros), 'Baco 1', 'Baco 22', 'Seibel 4643' ('Roi des noirs', 'Pannonhalmi kék'), 'Seibel 4986' ('Rayon d'Or'), 'Seibel 5279' ('Aurora'), 'Seibel 7053' ('Chancellor')(BÉNYEI és LŐRINCZ 2005). Kiemelendő a Bertille Seyve által készített SV (Seyve-Villard) sorozat, ismertebbek az 'SV 5276' ('Seyval blanc') a 'SV 12286', a 'SV 12375' ('Villard blanc') és a 'SV 18315' ('Villard noir') (GALET 1988).

Az 1950-s években a franko-amerikai hibridekre alapozva indult a rezisztencia nemesítés második nagy korszaka, többek között Magyarországon is. Ezek a programok az egyetemekre és kutatóintézetekre koncentráltak. Ebben az időben olyan fajták születtek, mint a 'Pölöskei muskotály', 'Teréz' (HAJDU és ÉSIK 2001), a 'Csillám', 'Viktória', 'Duna gyöngye', 'Palatina' (KOZMA et al. 1986), vagy a 'Zalagyöngye', 'Bianca', 'Medina' és 'Nero' fajták (CSIZMAZIA és

BEREZNAI 1968). Ezeknek a második generációs hibrideknek a minősége jelentősen jobb a franko-amerikai hibridekénél, de a rezisztencia mértéke inkább csökkent, azáltal ellenállóságuk és minőségük nem érte el a kívánt szintet. Ennek oka, hogy a nemesítési forrásként felhasznált észak-amerikai fajok rezisztenciája ugyan magas fokú, de összetett módon öröklődő, poligénus természetű (BOUBALS 1961). Ezért az eredeti cél eléréséhez, a magas minőség és a magas fokú rezisztenciák kombinálásához koncepcióváltás vált szükségessé.

1974-ben Franciaországban új rezisztencia forrásokra alapozva a rezisztencia nemesítés harmadik korszaka kezdődött el. Az ellenállóság forrásának keresését kibővítették, nagy hatású monogén rezisztencia génekkel rendelkező *Vitis* fajokat vontak be a nemesítési alapanyagok közé, vagy eltérő *Vitis* források ellenállóságát ötvözték. Ilyen forrás az immunitás szintű vagy magas fokú lisztharmat, peronoszpóra, filoxéra, fonálféreg, antraknózis és Pierce betegséggel szembeni rezisztenciával rendelkező *M. rotundifolia*. Ezek minőségének javítása érdekében a legjobb borszőlő *V. vinifera* fajtákkal kereszteztek vissza. A monogén rezisztenciának köszönhetően, miközben minőségük nemzedékről nemzedékre javult, az eredeti magas fokú rezisztenciát megőrizhették (BOUQUET 1980, 1986). Jelentős előrelépést jelentett a *V. vinifera* 'Kismis vatkana' és 'Dzsandzsar kara' fajtáknál felfedezett magas szintű lisztharmat rezisztencia (KOZMA et al. 2006; HOFFMANN et al. 2008). A *V. vinifera* eredetű lisztharmat és peronoszpóra rezisztens fajták felhasználása a rezisztencianemesítésben azzal az előnnyel is jár, hogy nem kell megküzdeni a vad fajok hátrányos tulajdonságaival. A kelet-ázsiai *Vitis* fajokból elsőként a fagyűrűsével kiemelkedő, peronoszpóra és lisztharmat ellenállósággal rendelkező *V. amurensis* fajt vonták be a nemesítési munkákba (NEGRUL 1946; KORBULY 2000). Szintén Kelet-Ázsiából származik a *V. romanetii* faj, melyet az elmúlt 10 évben vontak be a nemesítési munkákba. A belőle származó magas fokú monogén lisztharmat rezisztencia a *M. rotundifoliával* azonos szintű immunitást eredményez (RAMMING et al. 2011). A távol-keleti fajok között magas szintű lisztharmat és peronoszpórára ellenállóságot találtak a *V. piasezkii*, *V. davidii* és *V. libanensis* fajokban (WAN et al. 2007; PAP et al. 2016). A rezisztencia típusa még nem teljesen ismert a kelet-ázsiai fajoknál. A rezisztencianemesítésben az ellenállóság mértéke mellett fontos szempont annak tartóssága. A nemesítők célja a gombás betegségekkel szembeni minél több és eltérő mechanizmusú rezisztencia gén felhalmozása egy genotípuson belül (EIBACH et al. 2007). Ez a génhalmozás folyamata, amire a modern rezisztencianemesítés épül a tartós rezisztencia kialakításának érdekében.

2.4.1. Rezisztencianemesítés a PTE Szőlészeti és Borászati Kutatóintézetében

Innovatív rezisztens szőlőfajták előállítása Magyarországon jelenleg csak a PTE Szőlészeti és Borászati Kutatóintézetében folyik. Itt monogén rezisztenciaforrásokra alapozva 2000-ben

indult az új szőlőnemesítési program, melynek célja olyan új komplex hibridek előállítása, melyek a versenyképes minőséget ötvözik a peronoszpóra, lisztharmat és szürkerothadással szemben magas szintű rezisztenciával. Ehhez nagy segítséget nyújt a Pécssett található közel 1600 tétellel rendelkező szőlő génbank, mely a legnagyobb hazai, s világviszonylatban a 6. legnagyobb szőlő génbank. A sokrétű rezisztenciaforrásokra alapozva sikeresen kombinálták a *M. rotundifolia*, a *V. vinifera* cv. 'Kismis vatkana', valamint a *V. Romanetii* eredetű lisztharmat rezisztenciákat, valamint a *M. rotundifolia* és a *V. amurensis* eredetű peronoszpóra rezisztenciákat egy genotípusba (KOZMA és ROZNIK in press). Egy Run1+Ren1 vagy Ren4+Rpv1+Rpv8 génkonstrukciót tartalmazó rezisztens fajta valószínűleg hosszú távon is meg fogja őrizni rezisztenciáját (KOZMA et al. 2010). Ezen új fajták már a 6. és 7. nemzedéket jelentik a *V. vinifera* fajtákkal történő visszakeresztezésben, melyek csupán 3-4% vadfajokból származó idegen genomot tartalmaznak.

Ezeknek a keresztezéseknek nemcsak a sikeres (rezisztens és kiváló minőségű) fajták előállításában van jelentőségük, hanem a genomikai kutatásokhoz nélkülözhetetlen térképezési populációk szerepét is betöltik, molekuláris marker térképek szerkesztését és ismeretlen rezisztencia gén lókuszok azonosítását is lehetővé teszik. Az így létrejött családok megfelelnek a modernkori lisztharmat és peronoszpórával szembeni rezisztencianemesítést jellemző génpiramidálási módszereknek. A 2000-es évek óta egyre gyakrabban felbukkanó feketerothadás azonban veszélyeztette ezen innovatív fajták kémiai növényvédelem nélküli termesztését. Ezért további célul tűztük ki a feketerothadás ellenállóság beépítését az ígéretes fajtákba, fajtajelöltekbe. Ezek a fajták jelenthetik a biológiai alapot a környezetbarát mezőgazdasági gyakorlat és a biogazdálkodás számára.

2.4.2. Rezisztens fajták termesztése a fenntartható szőlőtermesztésben

A környezetkímélő szőlőtermesztésben a biológiai védekezés lehetőségei korlátozottak. Az alternatív gazdálkodási rendszerekben a környezet megóvása mellett fontos szempont a gazdaságosság. Rezisztens szőlőfajták termesztésével jelentős vegyszermennyiség csökkentés, ezáltal költségmegtakarítás érhető el. Az első gombarezisztens fajták még nagy százalékban tartalmaztak idegen, nem *V. vinifera*, géneket a rezisztencia lókuszok mellett. A kitartó európai rezisztencianemesítési munka eredményeként egyre magasabb minőségű szőlőfajták kerültek ki a nemesítési műhelyekből, ezért az OIV XIX. kongresszusa 1979-ben kimondta, hogy az interspecifikus rezisztens fajtáknál a minőség a fő szempont a származással szemben (ALLEWELDT 1979; KORBULY 2018). Az új, rezisztens fajták csökkentett vegyszeres védelemmel, gyengébb fertőzések esetén egyes kórokozókkal szemben vegyszeres kezelés nélkül is biztonsággal termesztethetők (KASERER et al. 1996). A piacképesség kialakításában komoly

szerep jut a szőlőnemesítő intézményeknek. Az új rezisztens fajtajelölteket és fajtaikat tájkísérletekben kell tanulmányozni, értékeiket ezek során lehet meghatározni. Értékük növelhető a rezisztens fajta mellé ajánlott termesztési és borkészítési technológiával. A termelők keresik az innovatív rezisztens fajtaikat, amit igazol az a tény, miszerint Magyarországon az elmúlt 20-25 évben folyamatosan csökken a szőlők termőterülete, ugyanakkor a rezisztens fajta területe - főként fehér bort adó szőlők esetében - emelkedő tendenciát mutat. A HNT (2016) adatai szerint 2014-re a 'Bianca' fajta lett a legnagyobb felületen termesztett fehérborszőlő fajta, maga mögé utasítva az 'Olaszrizling' és a 'Furmint' fajtaikat.

Az ökológiai termesztés világszerte dinamikusan fejlődő ágazat, számos termelő dönt úgy, hogy rezisztens fajta telepít a környezetkímélő termesztés jegyében. Olaszországban például évente már több mint egymillió oltványt állítanak elő az újonnan nemesített rezisztens fajtajelöltekből. Franciaországban pedig állami támogatással ösztönzik a rezisztens fajta szerkezetátalakító telepítését. Az európai rezisztens fajta előállításban élen jár a PTE Szőlészeti és Borászati Kutatóintézete. Az itt nemesített ellenálló fajtajelöltek közül mára több állami elismerésben részesült ('Jázmín', 'Sylver'), vagy minősítése folyamatban van (KOZMA és ROZNIK in press). Kiemelkedő jelentőségű új kutatási terület a klímaváltozás várható hatásainak elemzése a hazai szőlőtermesztés gyakorlatára vonatkozóan, különös tekintettel a növényvédelemre (felmelegedés, szélsőséges környezeti feltételek gyakoriságának és mértékének növekedése, és ennek következtében újabb kártevők megjelenése, áttelelése). Ezzel a jelenséggel szembesültek a 2000-es évektől az európai, majd 2010-től a magyarországi környezetkímélő szőlőtermesztést folytató gazdák. Miután minimalizálták az agrokemikáliák használatát - esetleg lisztharmat és peronoszpóra rezisztens fajtaikat termesztettek -, újonnan felbukkanó szőlőbetegséggel, a feketerothadással találták szembe magukat. Az elmúlt 8 év hazai és nemzetközi tapasztalatai alapján a feketerothadás ellenállóság kérdése nem kerülhető meg a szőlő rezisztencianemesítésében, ahhoz hogy megvalósulhasson a környezetkímélő szőlőtermesztés.

2.4.3. Feketerothadás rezisztenciára nemesítés forrásai

A feketerothadás gomba felbukkanását követően amerikai kutatók vizsgálni kezdték a termesztésben levő fajta és génbanki begyűjtött anyagok ellenállóságát feketerothadással szemben. A *V. vinifera* fajta között van különbség a fogékonyság mértékében, de minden gazdaságilag fontos *V. vinifera* fajta egyértelműen fogékony a feketerothadással szemben (BARRETT 1953, LOSKILL et al. 2009). Az első rezisztencia felméréseket BARRETT készítette (1953), melynek keretében észak-amerikai *Vitis* fajok leveleit, hajtásait és fürtjeit bonitálta természetes fertőzési körülmények között. Eredményeit összefoglalva: a legmagasabb fokú ellenállóságot párás, csapadékos körülmények között a *V. cinerea* mutatta. Számos genotípust több

helyen is megfigyelve csak elvétve találtak apró szétszóródó foltokat, esetenként piknídiummal, de a fürtökön egyszer sem jelentek meg a tünetek. A *V. rupestris* fajnál egységesen magas fokú rezisztenciát állapított meg. Tüneteket nem figyeltek meg a vizsgált 50 klón esetében. Szintén nem talált tüneteket a *V. rubra* faj különböző területről származó egyedein. Az USA-ban széles körben elterjedt faj, a *V. riparia*, egyedei változó feketerothadás rezisztenciával rendelkeznek a tünetmentestől a közepesen erős tünetekig. A *V. cordifolia* lombjának ellenállósága a jótól a közepes szintűig terjedt. A fertőzött foltokban piknídiumok fejlődését is megfigyelték. A *V. champini* klónok magas fokú ellenállóságot mutattak. A *V. amurensis*nek két klónját figyelték meg, melyek lombozata nagyon fogékony volt. A *V. sylvestris* fajt TISCH és mtsai (2013) vizsgálataikban kevésbé fogékonnak találták a feketerothadás fertőzésre, mint a *V. vinifera* cv. 'Müller-Thurgau' fajtát.

A 70-80-as években a Barrett által begyűjtött észak-amerikai *Vitis* fajok vizsgálatát MCGREW (1976) folytatta. Pályafutása alatt több, mint 200 genotípust, főként *V. rupestris*-t és *V. cinerea*-t vizsgált feketerothadás ellenállóság szempontjából. Célja a feketerothadás rezisztencia átörökíthetőségének megfigyelése volt, ezért a kiválasztott klónokat feketerothadás fogékony *V. vinifera* fajtákkal keresztezte vissza. Az utódokat szigorú üvegházi feltételek között figyelték meg. A *V. rupestris* és *V. cinerea*, mint feketerothadás rezisztens szülő partnerek sikeresen öröközték át ellenállóságukat a kísérletek során. McGrew általános megállapítása szerint a *V. rupestris* kevésbé jó nemesítési forrást jelent, mivel fürtjei kisebb méretűek, és karakteres mellékízzel rendelkezik. A *V. cinerea* alkalmasabb nemesítési forrásnak, mert később virágzik, és nagyobb fürtökkel rendelkezik. Hátrányuk, hogy a magoncok egy része csökkent növekedésű, vagy genetikailag életképtelen volt. A kísérletek összegzése, hogy variációkban gazdag anyag keletkezett, melyek egy része alkalmas volt a domináns immunitás szintű rezisztencia átörökítésére. A 200 tesztelt klónból csak egy tucatot választottak ki további nemesítési célokhoz (MCGREW 1976). Átfogó tanulmányt készített JABCO munkatársaival (1985), melyben több termesztésben lévő fajtát teszteltek végig a *G. bidwellii* két biotípusával, hogy felmérjék a növényi válaszokat mesterséges fertőzésre. A fajták reprezentálták a 4 nagy szőlőcsoportot: *V. vinifera*, amerikai hibridek, franko-amerikai hibridek és a *M. rotundifolia*. A *G. bidwellii* f. sp. *muscadinii*-vel szemben a *M. rotundifolia* szőlőfajták voltak a legfogékonyabbak, de tüneteket megfigyelték a másik három csoporton is. A *V. vinifera* és franko-amerikai hibridek közepesen voltak fogékonyak, míg az amerikai hibridek a legkevésbé. A *G. bidwellii* f. sp. *euvitis*-sel végzett fertőzésekkor a *V. vinifera* fajtákon tapasztalták a legtöbb és legnagyobb méretű foltokat, ezt követték az amerikai hibridek a fogékonyságot tekintve, majd a franko-amerikai hibridek. A *Muscadinia* fajtákon elvétve jelentek meg apró levélfoltok. A szerzők javaslata szerint csak a *G.*

bidwellii f. sp. *euvitis*-sel szemben érdemes nemesítés programot indítani, mert a feketerothadásnak csak ez a biotípusa veszélyezteteti nagymértékben a termesztett *vinifera* fajtákat. Rezisztencia forrásként a 'Catawba', 'Concord', 'Chancellor' és 'Seyval blanc' fajtákat nevezik meg (JABCO et al. 1985).

Európában csak a 2000-es évek óta foglalkoznak aktívabban a feketerothadással, mint jelentős szőlő károsítóval. Németországban készültek az első felmérések az ültetvényekben előforduló fajták feketerothadás ellenállóságáról, valamint a kórokozóval szembeni védekezési stratégiák kidolgozásáról (MOLITOR 2009; REX 2012). Ennek oka, hogy a németek élen jártak a bio- és ökológiai termesztés megvalósításában, ezzel utat engedve a bioültetvényekben a kórokozó felszaporodásának, járványok kialakulásának. 2012-ben PhD dolgozatot írt REX a feketerothadással szembeni rezisztenciaforrások azonosításából. Egyes megállapításait figyelembe vettük ezen dolgozat kísérleteinek megtervezéséhez. Ellenállónak találta a 'Felicia', 'Merzling', 'Villard blanc' fajtákat; közepesen ellenállónak a 'Villaris' és 'Regent' fajtákat; és fogékonnak a 'Kékfrankos', 'Müller-Thurgau', 'Primitivo', 'Reberger' fajtákat.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

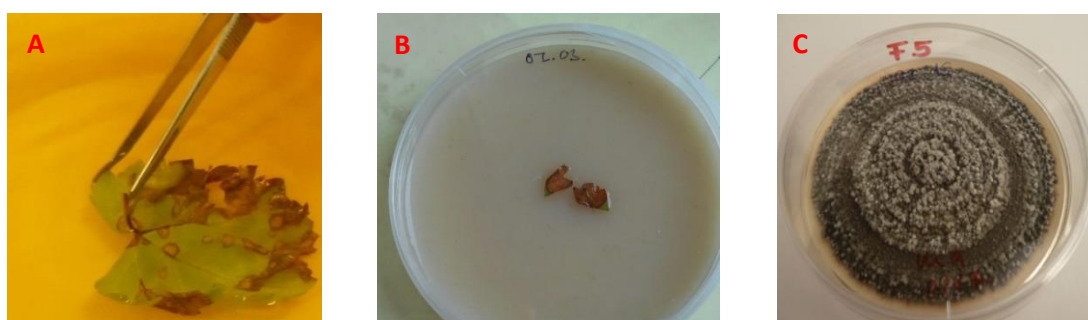
3.1. A kórokozó patogén gomba *in vitro* fenntartása

3.1.1. A *G. bidwellii* begyűjtése

A kísérletekhez a *G. bidwellii* feketerothadást okozó patogén gomba szabadföldről begyűjtött, majd VÁCZY és mtsai. (2012), valamint MOLITOR (2009) módszere alapján izolált vonalait, tenyészeit használtuk. A feketerothadással fertőzött növényi részek begyűjtésére az egri és pécsi szőlészeti kutatóintézetek szőlőültetvényeiben került sor 2011 és 2012 között. Ezt egészítettük ki 2014-ben Pécsen *Vitis* levelekről begyűjtött gomba izolátumokkal. A kórokozó izolátumait 90 mm-es Petri-csészében, *in vitro* tartottuk fent JAILLOUX (1992) módszere szerint.

3.1.2. *G. bidwellii* *in vitro* izolátum készítés és nevelés

Az *in vitro* kísérletekhez a begyűjtött mintákból morfológiai jellemzőik alapján *G. bidwellii*-ként azonosított gomba tenyészeteket állítottunk elő. A leveleken kifejlődő foltokból izoláltuk a kórokozót. Ehhez a levélfoltot kivágtuk és felületét fertőtlenítettük 10%-os hipós vagy neomagnolos oldattal, majd többször steril vízzel átöblítettük és nedves szűrőpapírral bélelt Petri-csészében 3-4 napig hűtőben tároltuk. Ezt követően fél nap szobahőmérsékleten történő inkubálás után a piknídiumok kinyíltak és steril boksban mikroszkóp és oltótű segítségével leszedtük a kiáramlott spórákat, amiket egyesével steril ½ PDA táptalajra helyeztünk. Az izolátum készítés lépéseit a 15. ábra mutatja. A fenntartáshoz és a kísérletekhez a legmagasabb sporulációt adó vonalakat választottuk ki, és oltottuk tovább. Az izolátumokat 25 °C-on állandó fluoreszcens megvilágítással (33% Osram 58w/77 Fluora; 33% Osram L58w/965 Biolux és 33% Osram Black light blue (UVA) 36W/73 fény) neveltük Petri-csészében. A tenyészetekből 2-3 hét után kb. 0,5 cm² nagyságú szegmenst kivágtunk lamináris boxban és friss tápközegre átvittünk.



15. ábra *Guignardia bidwellii* *in vitro* tenyészet indítása feketerothadással fertőzött levél lézióból, Pécs, 2015 (A: feketerothadással fertőzött levél lézió felületi fertőtlenítése 10%-os hipós vízben; B: kivágott lézió inkubálása hűtőszekrényben; C: Izolált *G. bidwellii* gomba tenyészet a 21. napon

3.1.3. A kórokozó azonosítása

3.1.3.1. A *G. bidwellii* izolátumok morfológiai azonosítása

A Petri-csészében növekvő gomba micéliumokat morfológiai bélyegeik alapján azonosítottuk (VÁCZY et al. 2012). A kifejlődő piknídiumokban termelődő konídiumokat a PTE Általános és Környezeti Mikrobiológiai Tanszékén mikroszkópos vizsgálatokkal azonosítottuk.

3.1.3.2. A *G. bidwellii* izolátumok molekuláris azonosítása

A fertőzéshez felhasznált izolátumok egy részében molekuláris szintű azonosítást végeztünk a KRF SZBKI munkatársával riboszomális DNS nagy alegység (LSU) és ITS-régió szekvenciák alapján. A szekvencia felszaporításához LR0R (5'-ACCCGCTGAACTTAAGC-3') és LR5 (5'-TCCTGAGGGAACTTCG-3') primereket használtuk. A szekvenciaillesztés a www.ncbi.nlm.nih.gov weboldal CLUSTAL W funkciójával történt (MADDEN 2002).

3.1.4. Táptalaj kísérletek beállítása *G. bidwellii* *in vitro* neveléséhez

A nagymennyiségű növényanyag egyidejű mesterséges fertőzéséhez szükségünk volt egy adott időpontban a *G. bidwellii* nagymennyiségű spóra szuszpenziójára a megfelelő időpontra időzítve. Ennek eléréséhez táptalajkísérletet állítottunk be a spórakihozatal fokozásához, mind időben, mind mennyiségben. A kísérletben a *G. bidwellii* szilárd táptalajon való növekedését három különböző alaptáptalajon (1/2 burgonya dextróz, zabliszt és maláta kivonat) és azok adalékanyaggal kiegészített változatain (2. táblázat) vizsgáltuk 5 ismételtsben. A táptalajokat 1 literes üvegedényben sterilizáltuk 20 percig 121 °C-on autoklávban, majd a pH-t a gombának optimális 5,2-5,5 közé állítottuk be.

2. táblázat *G. bidwellii* *in vitro* táptalaj kísérletben szereplő táptalajok összetétele

Tápközeg neve	Összetétel				Irodalmi hivatkozás
	alap	agar	deszt. víz	adalék	
ZABI	20 g zabliszt	7,5 g	500 ml	-	HOFFMAN et al. 2002
ZABII	20 g zabliszt	7,5 g	450 ml	50 ml must	
ZABIII	20 g zabliszt	7,5 g	475 ml	25 ml must	
ZABIV	20 g zabliszt	7,5 g	500 ml	6,4 ml 25%-os tejsav	NORTHOVER 2008
PDAI	12 g PDB	8 g	500 ml	-	MOLITOR 2009
PDAII	12 g PDB	8 g	450 ml	50 ml must	
PDAIII	12 g PDB	8 g	475 ml	25 ml must	
PDAIV	12 g PDB	8 g	500 ml	6,4 ml 25%-os tejsav	NORTHOVER 2008
MEAI	16,8 g MEA	-	500 ml	-	JAILLOUX 1992
MEAII	16,8 g MEA	-	450 ml	50ml must	
MEAIII	16,8 g MEA	-	475 ml	25ml must	
MEAIIV	16,8 g MEA	-	500 ml	6,4 ml 25%-os tejsav	NORTHOVER 2008

deszt. víz: desztillált víz; PDB: Potato dextrose broth; MEA: Malt extract agar

A kísérlet során a telepeket a 7., 14. és 21. napokon értékeltük, a telepek mérete, növekedése, formája és színe alapján. Az adatok feldolgozását és statisztikai elemzését Microsoft Office Excel 2010 programban végeztük. A különböző táptalajok micélium növekedésére gyakorolt hatását a Student-féle t-próba valószínűségével adtuk meg.

3.1.5. Fertőzőanyag előállítása és ellenőrzése

3.1.5.1. Spóraszuszpenzió készítése

A spórák leszűreteléséhez az átoltást követő 14-16 napos tenyészeteket használtunk, mert ilyenkor volt legmagasabb a spórakihozatal. A gomba kultúrákat 10 ml steril vízzel árasztottuk el, majd rázató gépbe tettük 15 percre, hogy a piknídiumok kinyíljanak. A kiszabaduló spórákat pipettával szívtuk le a Petri-csészéből (16. ábra). A spóra szuszpenzió koncentrációját Bürker kamrával történő számlálást követően állítottuk be. Fertőzésekhez 10^4 - 10^5 spóra/ml töménységű szuszpenziót használtunk. Szuszpenzió készítéshez a PDAI, ZABI, ZABII táptalajokat használtuk.



16. ábra Fertőzőanyag kinyerése *G. bidwellii* in vitro gomba tenyészetéről

3.1.5.2. A fertőzőanyag patogenitásának ellenőrzése

Az ellenőrzéshez kora tavasszal üvegházban hajtottunk meg a feketerothadással szemben ismertén fogékony növényeket ('Furmint'). Ezeket a tesztnövényeket az erre kialakított klimatizált helységben kezeltük a rendelkezésre álló különböző eredetű gombatelepek spóraszuszpenziójával. A 3 hét inkubációs idő letelte után megbizonyosodhattunk arról, hogy az általunk előző évben begyűjtött és visszaizolált feketerothadás telepek megfelelő patogenitással rendelkeznek a tervezett mesterséges fertőzések elvégzéséhez.

3.1.5.3. Sporulációs kísérlet

A 2. táblázatban szereplő táptalajokon legintenzívebben növekvő tenyészeteken sporulációs vizsgálatot végeztünk. Ehhez mindhárom alaptáptalajon és azok 10% szőlőmustot tartalmazó változatain jegyeztük fel a sporuláció kezdeti időpontját és mértékét. A telepeket fénymikroszkóppal átvizsgáltuk és feljegyeztük a sporuláció intenzitását (a képződött ivartalan termőtestek (piknídiumok) hány százaléka sporulál egyszerre). Ennek jellemzésére 4 kategóriát

különítettünk el: intenzíven sporulálónak számított, amikor a piknídiumok legalább 60%-án láttunk nagymértékű sporulációt; jól sporuláló tenyészetnek vettük, amikor a piknídiumok 40-60%-án láttunk sporulációt; gyenge sporulációnak vettük, ha a piknídiumok 20-40%-a volt aktív; illetve gyér vagy nem sporuláló a tenyészet, melyen a piknídiumok kevesebb, mint 20%-a kezdett spóra termelésbe. A sporuláció koncentrációjának méréséhez a képződött piknídiumokat a 14 nappal az inokulálást követően 3-3 ml steril vízzel szuszpendáltuk, majd hemicitométerben (Bürker kamra) számoltuk a képződött konídiumokat, mind a 4 csoporton belül. A must hatását a sporulációra egyváltozós varianciaanalízissel értékeltük.

3.2. Növényanyag

3.2.1. Feketerothadás rezisztencia forrás felkutatásához felhasznált növényanyag

A rezisztenciaforrás kereséséhez 168 szőlőfajtából és hibridből készült gyökeres dugvány a vizsgálatokhoz. A PTE SZBKI génbankjából megszedett genotípusok származásukból adódóan változatos genetikai háttérrel rendelkeznek. A kiválasztáshoz a pécsi kutatóintézet 2012. évi szabadföldi feketerothadás felvételezésének eredményeit (9.2. melléklet) és korábbi feketerothadás fogékonyságról szóló irodalmi hivatkozásokat vettük alapul. Ebből kiindulva 111 genotípust jelöltünk ki a fajtagyűjteményből a kísérletekhez, melyekre a továbbiakban génbanki dugványokként hivatkozom.

Első körben a 20. század során nemesített interspecifikus franko-amerikai hibridekből és ezek származékaikból választottunk ki 12 db Seibel és Seyve-Villard hibridet, valamint ezek európai nemesítési programok visszakeresztezéseiből származó fajtáit (61 db). Ezeknek a genotípusoknak a szülei között előfordulnak olyan, a feketerothadás kórokozóval ko-evolúcióban fejlődött észak-amerikai *Vitis* fajok (*V. rupestris*, *V. riparia*, *V. lincecumii*, *V. cinerea*), melyek a magas fokú rezisztenciájukat átörököthették (BARRETT 1953; GALET 1988; DI GASPERO et al. 2012). Ezekre a korai rezisztencianemesítési programokból származó interspecifikus hibridekre jellemző a peronoszpóra és lisztharmat betegségekkel szembeni részleges ellenállóság (GALET 1988), és minőségükben felülmúlják a kiindulási vad fajokat és direkttermő szőlőket.

Második körben a kórokozótól elszigetelten fejlődött, az eurázsiai és kelet-ázsiai géncentrumból származó, fajtákat válogattunk ki, valamint a nemesítési programokban azok felhasználásával készült hibrideket. Az eurázsiai szőlő géncentrumban volt már korábban arra példa, hogy a szintén észak-amerikai kórokozókkal (lisztharmat, peronoszpóra) szemben értékes és felhasználható rezisztenciaforrásokat találtak (KOZMA et al. 2006, HOFFMANN 2008; DI GASPERO et al. 2012).

Tesztelésekhez gyökeres dugvány készült 26 db magyar nemesítésű *V. amurensis* x *V. vinifera* F2, BC1 és BC2 hibridből és 2 db közép-ázsiai *V. vinifera* fajtából.

Ezek mellé kiválasztottunk még további hét pécsi, több *Vitis* fajt ötvöző **komplex hibridet** (*M. rotundifolia*, *V. amurensis*, *V. vinifera*, franko-amerikai hibrid) a feketerothadás ellenállóságuk felméréséhez. Ezek a BC5 és BC6 hibridek magas fokú lisztharmat, peronoszpóra ellenállósággal és kiváló minőséggel rendelkeznek.

A rezisztenciaforrások körét 2014-ben a pécsi génbankban található **Grúziából származó** 57 db *V. vinifera* fajtaival bővítettük ki. Ezeket a fajtaikat azért választottuk, mert meleg, párás térségből származnak, és az elmúlt időszakban megjelent friss publikációk szerint találtak közöttük lisztharmat és/vagy peronoszpóra rezisztent (BITSZDE et al. 2015).

A mesterséges fertőzésekhez **kontrollként** a korábbi irodalmakban ellenállónak talált 'Börner' (*V. riparia* x *V. cinerea*) alanyfajta és *M. rotundifolia* magoncaiból készített dugványok, míg fogékony kontrollként termesztésben elterjedt fogékony *V. vinifera* 'Furmint' fajtát (MIKULÁS et al. 1999) használtunk. A tesztelésekben szereplő teljes fajtalistát, származásukkal együtt az 9.3. melléklet tartalmazza.

3.2.2. Feketerothadás rezisztencia öröklődésének, nemesítési alapanyag vizsgálatának növényanyaga

A rezisztencia öröklődésének vizsgálatát észak-amerikai feketerothadás ellenálló különböző *Vitis* fajok és feketerothadás fogékony fajták keresztezéséből származó, irodalmi adatok alapján magas fokon Black rot (BR) rezisztens komplex hibrid visszakeresztezésével, majd a hibridek öntermékenyítésével létrehozott hibridcsaládokra terveztük.

A Genevai Génbankból kiválasztottuk 2012-ben az irodalmi adatok alapján tünetmentes szintű feketerothadás ellenállósággal rendelkező **BR5** (*V. cinerea* '6524-219' x *V. vinifera* 'Tannat') tételt, melynek öntermékenyítésből származó populáció magjait 2013-ban vetettük el Pécssett. A térképezéshez szánt családból 500 egyed fölötti utódpopulációt nyertünk, melyeket mesterséges levéltesztelésnek vetettünk alá. A hibridcsalád jelzése **12-14**.

Szintén a Genevai Génbankból választottuk ki 2012-ben a **BR 10-es** számú (*V. berlandieri* x *V. vinifera* cv 'Fresno' 58-22) hibridet, melynek öntermékenyítésből származó utódpopuláció magjait Pécssett vetettük el 2013-ban. A család **12-15-ös** néven szerepel.

A 'Csillám' fajta rezisztenciájának átörököthetőségének vizsgálatára készítettük a **15-4** számú hibridcsaládot. Ennek elkészítéséhez 2015-ben az 'SK 00-1/7' ((*M. rotundifolia* x *V. vinifera* BC4) x 'Panonija') számú BC5 hibridet kereszteztük feketerothadásra ellenálló 'Csillám' fajtaival. A kapott magokat 2016-ban vetettük. Összesen 126 magoncot neveltünk fel a családból.

Nemesítési alapanyag kereséséhez kiválasztottuk **2011-ben** a Cornell Egyetem, Geneva Génbankjából (USA) a nővirágú (Black rot resistant) **BR16** (*V. rupestris* 65-43 x Galibert 114-11) feketerothadásal szemben tünetmentes hibridet, amelyet kérésünkre a 'Chardonnay' fajtaival

keresztettek vissza, így jött létre a **11-20-as hibridcsalád**. Ez a hibridcsalád 3-4 lombleveles állapotban üvegházi lisztharmat fertőzésen és szelekción esett át, majd 2012-2014 között szabadföldön növényvédelem nélküli tesztelő kertben szelektálták tovább. A lisztharmat, peronoszpóra tüneteket nem mutató magoncokból gyökeres teszt dugványokat készítettünk, genotípusonként 4 ismételtsben.

Magyar-Amerikai Kutatási Alap által 1997 és 2000 között támogatott kutatás keretében állítottuk elő és küldtük el Genovába a 99-11 hibridcsaládot, amelyet a *M. rotundifolia* x *V. vinifera* BC4 és a 'Panonija' keresztezésével hoztuk létre. Ebből a hibridcsaládból kiemelt egyedet keresztezték egy New York-i (NY95-0308.01) hibriddel. Ezen család feketerothadás rezisztens hibridjének (NY06.0516.04) szabadbeporzásából származik a **11-19-es** magonccsalád. 50 magoncból készült feketerothadás tesztelésre alkalmas dugvány, genotípusonként 4 ismételtsben. 2017-ben a **11-20-as** és **11-19-es** családok feketerothadás ellenállósággal rendelkező egyedeit kisparcellás összehasonlító kísérletbe állítottuk be, és ezen felül feketerothadás tesztelő kertben is tovább értékeltük.

3.2.3. Tesztnövények előállítása és fenntartása

3.2.3.1. Dugványkészítés

A dugványok készítéséhez egyéves 3-4 rügyes vesszőket szedtünk meg szabadföldről a téli nyugalmi időszakban. A vesszőket telítődésig felszívattuk vízzel, majd felületi fertőtlenítést követően 2 °C alatti hőmérsékleten tároltuk. Április elején hormonkezelést követően, előhajtatással folytattuk a gyökeresítést a gyorsabb kalluszképződés érdekében. A 3 hetes 24 °C-on fűrészpörban történő hajtatást követően a talpkallusszal rendelkező vesszőket kis tőzegpoharakba ültettük és talpmelegítéssel gyökeresítettük.

3.2.3.2. Hibridcsaládok előállítása

A magonc hibridcsaládok készítéséhez tavasszal celofánzacskóba gyűjtött friss virággal poroztuk be a kasztrálást követően a bibéket, amikor azokon megjelentek az érésüket jelző szekrétaumcseppek. A fürtök celofánzacskóban maradtak érésig. Szeptember közepén a teljes érés előtt szüreteltük le a fürtöket, a magokat kiszedtük, lemostuk, megszáritottuk és száraz helyen tároltuk. A téli időszakban nedves perlitben elrétegeztük, és fagypona körüli hőmérsékleten tartottuk vetésig. Vetés előtt a magokat kimostuk a perlitből, 1 napig vízben áztattuk, majd Solvochin extra (8-oxikinolin-szulfát) gombaölő fertőtlenítő szer 0,5%-os oldatával átmostuk. Jiffy pot elnevezésű préselt tőzeghengerekbe vetettük a magokat, melyeket a Baranya Megyei Kormányhivatal Növény- és Talajvédelmi Igazgatóság fűtött üvegházában keltettünk és csak áprilisban 2 leveles stádiumban hoztuk vissza az SZBKI üvegházába, ahol a magoncokat 0,5 literes poharakba tőzeges virágöldkeverékbe ültettük.

3.2.3.3. Növényanyag fenntartása

A szépen megindult, jó vigorú dugványokat és magoncokat nagyobb, 5 literes, nevelőedénybe tőzeges földkeverékbe ültettük és üvegházban akklimatizáltuk. A teszt dugványokat 4 éven keresztül tartottuk fent, ezalatt kétszer ültettük át friss tápközegbe. A vegetáció alatt fóliasátorban és üvegházban neveltük a növényeket, a növekvésükhöz szükséges tápanyagokat Volldünger® Linz Classic levéltrágyával pótoltuk, öntözésüket állandó felügyelettel és automatikus öntözőrendszer kiépítésével oldottuk meg. A tesztelesekhez intenzíven növekvő hajtásokra van szükség, ezért vegetációjuk során többször erős visszavágáson estek át a növények. Lombhullást követően a visszavágott növényeket fagymentes száraz pincében teleltettük át.

3.3. Fertőzési kísérletek

A mesterséges levél-, bogyó-, fűrtfertőzési kísérleteket klímaszobában és szabadföldön állítottunk be 2013 és 2017 között. A fertőzések időpontját, az ismétlések számát és a felhasznált növényanyagot a 3. táblázat tartalmazza.

3. táblázat Mesterséges feketerothadás fertőzések összefoglaló táblázata. Tartalmazza a fertőzések időpontját, helyszínét és a felhasznált növényanyagot.

Fertőzés ideje	Fertőzött növényanyag	Fertőzés helyszíne
2013.06.13.	12-14-es hibridcsalád	teszt kamra
2014.06.03.	génbanki dugványok	klímaszoba
2014.07.18.	génbanki dugványok, Grúziából származó dugványok	klímaszoba
2014.08.15.	génbanki és Grúziából származó dugványok ismétlése	klímaszoba
2015.05.21.	génbanki és Grúziából származó dugványok ismétlése	klímaszoba
2015.06.10.	génbanki és Grúziából származó dugványok ismétlése	klímaszoba
2015.06. 17.	12-14-es hibridcsalád	klímaszoba
2015.06.24.	kiválasztott fajták fűrt fertőzése	klímaszoba
2015.07.08.	12-15-ös és 11-20-as hibridcsaládok	klímaszoba
2016.05.10.	12-14, 12-15-ös hibridcsaládok ismétlése; papírkorongos fertőzés	klímaszoba
2016.05.25.	11-20-as hibridcsalád és génbanki, grúz dugványok ismétlése	klímaszoba
2016.06.03-06.	kiválasztott fajták fűrt fertőzésének ismétlése	klímaszoba
2016.06.14.	15-4-es magonccsalád; 11-19-es hibridcsalád fertőzése	klímaszoba
2017.05.26.	12-14-es és 11-19-es hibridcsaládok ismétlése;	klímaszoba
2017.06.07.	kiválasztott fajták fűrt fertőzésének ismétlése	klímaszoba
2017.06.07-21.	Csillám és kontroll fajták fűrt fertőzése	45 tábla szabadföld

3.3.1. Mesterséges fertőzés klímaszobában

3.3.1.1. Mesterséges levélfertőzés klímaszobában

A fertőzéseket egy arra kialakított klímaszobában végeztük 2013-2017 között, évente több időpontban, a növények vegetációjához igazítva, a BBCH skála alapján.

A beállított koncentrációjú gomba inokulumot az előre benedvesített 4-6 leveles intenzíven növekvő hajtások kiterült leveleire és hajtáscsúcsára, valamint a növekvő bogyókra juttattuk ki

finoman porlasztó kézi permetezővel. A beoltást követően 24 órán keresztül kb. 92-96%-os relatív páratartalom mellett sötétben inkubáltuk a növényeket, majd a páratartalmat visszacsökkentve (65-80%) mesterséges 16/8 órás megvilágítás (50% Osram Biolux és 50% Fluora fénycsövek) mellett neveltük azokat az értékelésükig. A hőmérsékletet 24-28 °C között tartottuk. Genotípusonként 3 ismétlésben végeztük a fertőzéseket.

3.3.1.2. Mesterséges levélfertőzés papírkorongos módszerrel

A papírkorongos fertőzést és szövetfestési vizsgálatokat 2016 májusában végeztük el. A növekvő fiatal levelekre *G. bidwellii* spóraszuszpenzióba mártott nedves szűrőpapír korongokat helyeztünk, ezzel meghatároztuk a fertőzés pontos helyét. A leveleket a papírkorongokkal együtt inkubáltuk a levélfertőzésekkel megegyező módon. Az inokulálást követő 16. és 48. órában mintavétőt használva 9 mm átmérőjű levélkorongokat vágunk ki a szűrőpapírral fertőzött levéllemezről, melyeket rögtön etanol-ecetsav (3:1 V/V%) oldatba tettük, rögzítés és színtelenítés céljából. A begyűjtött mintákat Trypán-kék festékkel megfestettük a színtelenítést követően REX 2012-es protokollja szerint. A megfestett szöveteket fénymikroszkóppal vizsgáltuk, amiről fényképes dokumentáció készült. A vizsgálathoz az előző két év levélfertőzései során feketerothadással szemben ellenállóságot mutató 'Csillám', 'Börner', 'S 7053', 'SV 5276' fajtákat választottuk ki. Fogékony kontrollként a 'Furmint' és 'Petra' fajták szolgáltak. Minden időpontban minimum 3 levélkorongot festettünk meg, és értékeltük a kicsírázó gomba spórák micéliumának növekedését a levéllemez felületén. A papírkorongos fertőzés módszeréről, a levélminta szedéséről, majd laboratóriumban történő megfestéséről készült képeket a 17. ábra mutatja.



17. ábra Papírkorongos fertőzés folyamata, Pécs, 2015. A: mesterséges fertőzés *G. bidwellii* spóra szuszpenzióba mártott szűrőpapír koronggal; B: mintavétel 18 órával a fertőzést követően; C: kivágott levélkorongok festése Trypán-kék festékkel

3.3.1.3. Mesterséges bogyó- és fürtfertőzés klímazobában

A legalább közepes levélrezisztenciával rendelkező 22 fajta gyökeres dugványait tovább vizsgáltuk bogyó rezisztencia szempontjából 2015-2016-ban. A fertőzésre kiválasztott BBCH75-ös állapotú fürtöket színes szigetelő szalaggal jelöltük meg. A fürtöket és környező leveleket alaposan benedvesítettük a páratartalom emelése érdekében. A spóra szuszpenzió koncentrációját a levélfertőzésekkel felhasználttal megegyező töménységűre állítottuk be. A spóra szuszpenziót kézi permetezővel juttattuk a bogyók felületére. Ezt követően 24 órán át sötétben 24-27 °C-on inkubáltuk a növényeket 95%-os páratartalom biztosítása mellett. A második napon csökkentettük a páratartalmat és 16/8 órás mesterséges megvilágítást (50% Osram Biolux és 50% Fluora fénycsővek) állítottunk be a növényeknek. 2017-ben egyes genotípusoknál több fenológiai stádiumban (BBCH65, BBCH73, BBCH77) végeztünk fürtfertőzést a fogékonysági stádium meghatározásához. A hőmérsékletet 24-28 °C között tartottuk az értékelésig.

3.3.2. Mesterséges bogyó- és fürtfertőzés szabadföldön

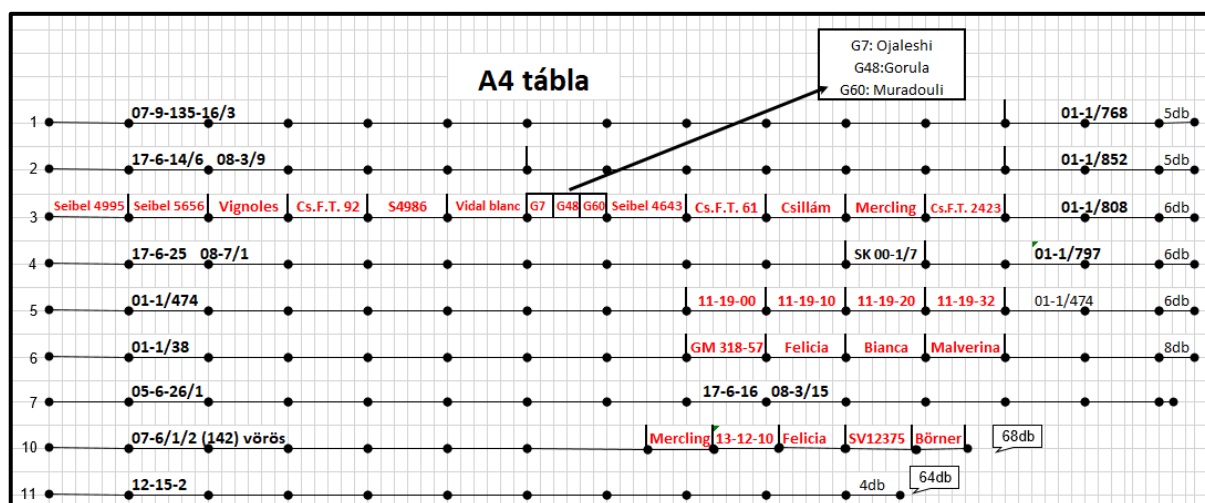
A szabadföldi mesterséges fürtfertőzéshez 2017 nyarán voltak optimálisak az időjárási feltételek. A fertőzéseket a 'Csillám' szőlőfajtán és fogékony kontroll fajtákon ('Viktória gyöngye' és 4/2-es hibrid) végeztük el az SZBKI Máriai Telephelyén található 45-ös permetezetlen táblában. Szabadföldön a fokozott páratartalmat a levelek és a sorköz belocsolásával, majd fóliával való takarással érték el (18/A. ábra), a sötétítést pedig rachel hálónak több rétegben való alkalmazásával oldottuk meg (18/B. ábra). A megjelölt fürtöket virágzás környékén (BBCH65, BBCH68), majd ezt követően BBCH71 és BBCH75 fejlettségi stádiumban fertőztük *G. bidwellii* spóra szuszpenzióval. A fajták ellenállóságának felmérésére az optimális hőmérséklet biztosítása érdekében az előrejelzésekre alapozva a kora hajnali vagy az esti órákban végeztük el a fertőzéseket, így elkerülve a gomba bejutásának szempontjából kritikus első órákban a közvetlen napsütést és a túlzottan magas hőmérsékletet.



18. ábra Szabadföldi mesterséges fekete-rothadás fürtfertőzés, 2016, Pécs, 45. tábla.

3.3.3. Szabadföldi természetes feketerothadás fertőzés megfigyelése

A pécsi SZBKI környezetkímélő, kísérleti ültetvényeiben 2012 óta minden évben felmértük a természetes feketerothadás fertőzés mértékét is. A felvételezések eredményei és nedves klímája alapján a Szentmiklós-hegyi Kísérleti Telep A4-es permetezetlen tábláját választottuk ki a feketerothadás tesztelőkert kialakításához. Évek óta ebben a táblában zajlik a vegyszeres védelem nélkül a lisztharmat és peronoszpóra ellenálló új fajták termesztése, melyek feketerothadásra fogékonyak, így itt a kórokozó járványos mértékben felszaporodott 2012 és 2016 között. 2017 nyarán a korábbi években ellenállónak értékelt fajtákat, hibrideket oltották át meglévő tőkékre feketerothadásra fogékony komplex hibridek közé. Minden fajtából 5 tőke került leoltásra (19. ábra). A nyáron frissen meginduló zsenge szövetű növekvésben lévő leveleken a vegetáció során 3 alkalommal értékeltük a megjelenő feketerothadás tüneteket. A bonitálást 2018 nyarán több időpontban megismételtük.



19. ábra Szentmiklós-hegyi Kísérleti Telep A4 tábla tesztelő kert elrendezése, Pécs.
(Pirossal a frissen oltott, szabadföldi bonitálásra váró hibridek szerepelnek)

3.4. Fertőzési kísérletek értékelése

3.4.1. Feketerothadás levélfertőzés értékelése

A tesztelések kiértékelését a leveleken a fertőzést követő 21. napon, majd azt követően 7 naponta végeztük, hogy a lassabban kifejlődő tüneteket is felmérhessük. A tesztelt növények leveleinek fenotípusos értékeléséhez a tüneteket a foltok, léziók számával, sűrűségével, méretével és a piknídiumok megjelenésével jellemeztük BARRETT (1953) módszerére alapozva. A tüneteket bonitálással értékeltük egy nemzetközileg elfogadott 5 fokozatú skálán. Figyelembe vettük a fertőzött levélfelület arányát az összes levélfelülethez viszonyítva. Fertőzésenként az egyes egyedek leveleinek átlagát vettük alapul. A skála egyes bonitálási értékeihez tartozó feketerothadás tünetek VIVC leírását a hozzá tartozó rezisztencia szint meghatározásával az 4. táblázat tartalmazza (<http://www.vivc.de/resistances/Guignardia-bidwellii-Blatt.pdf>).

4. táblázat Feketerothadás fertőzés levél tüneteinek bonítási skálája (VIVC besorolás)

Skála értéke	Rezisztencia foka	Tünetek jellemzése
9	Tünetmentes rezisztencia	Nincs látható makroszkópikus tünete a fertőzésnek (20/A. ábra)
7	Magas fokú rezisztencia	Kisebb nekrotikus vagy klorotikus foltok, nem látható bennük piknídium (20/B. ábra)
5	Közepes rezisztencia	Elszórta nekrotikus foltok, bennük szórványosan piknídiumok találhatóak (20/C. ábra)
3	Alacsony rezisztencia	Közepes mennyiségű nekrotikus folt, közepes mennyiségű piknídiummal (20/D. ábra)
1	Nagyon alacsony rezisztencia	Sok, nagyobb méretű nekrotikus folt, bennük bőven találhatóak piknídiumok. Foltok gyakran összefolynak. (20/E. ábra)



20. ábra Feketerothadás fertőzés levél tüneteinek bonítási skálája (VIVC besorolás) alapján A: VIVC 9 kategória; B: VIVC 7 kategória; C: VIVC 5 kategória; D: VIVC 3 kategória; E: VIVC 1 kategória.

3.4.2. Feketerothadás bogyófertőzés értékelése

A bogyókon a betegség tüneteit szintén a 21. napon értékeltük először, ezt követően hetente felmértük a változásokat a fürtök teljes éréséig. A bogyók értékelésénél egy általunk felállított bonitálási rendszert használtunk, mely alapján négy kategóriába soroltuk a fajtákat (21. ábra). **Tünetmentesen rezisztens** = nem jellemző a tünet megjelenése; **Rezisztens** = éréskor ép bogyók, csak felszíni, kevés piknidiával megjelenő foltok; **Mérsékelten fogékony** = a bogyók kevesebb, mint 50%-ból lesz múmia; **Nagyon fogékony** = a bogyók 50-100%-a rohad el, válik múmiává (ROZNIK et al. 2017).



21. ábra Feketerothadás fertőzés bogyó tüneteinek bonitálási skálája (ROZNIK et al. 2017). A: Tünetmentesen rezisztens; B: Rezisztens; C: Mérsékelten fogékony; D: Nagyon fogékony

3.4.3. Mesterséges fertőzések statisztikai értékeléséhez használt módszerek

A levél- és fürtellenállóság eredmények közötti kapcsolat meghatározásához az IBM SPSS statisztikai program Pearson féle korrelációs számítást használtuk.

A feketeterothadás rezisztencia öröklődésének illesztésvizsgálatát a χ^2 próbával végeztük, ahogy a kritikus érték χ^2 táblázathoz tartozó érték meghatározását is SVÁB 1973 által leírtaknak megfelelően alkalmaztuk.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A *G. bidwellii* izolátum készítésének és ellenőrzésének eredményei

A 2010-ben és 2011-ben Egerben és Pécsen, majd 2014-ben Pécssett begyűjtött feketeterohadás tüneteket mutató levelekről sikeresen izolált gombatelepeket (5. táblázat) ½ PDA és zabliszt agar táptalajon tartottuk fent a fertőzési kísérletekhez, valamint klasszikus mikológiai és molekuláris genetikai vizsgálatokhoz.

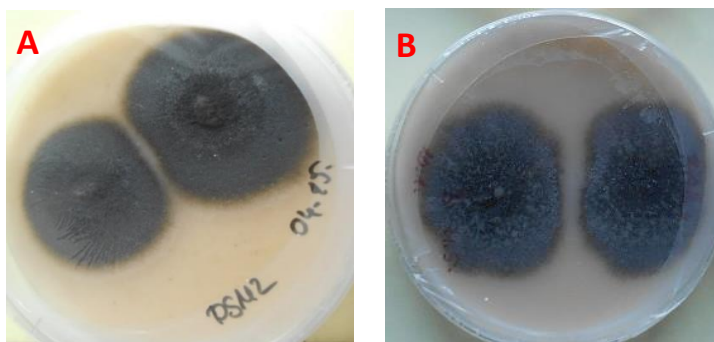
5. táblázat Mesterséges fertőzésekhez használt *G. bidwellii* izolátumok adatai

Izolátum neve	Begyűjtés helye	Növényi rész	Begyűjtés éve
F10/22, F13/22	Eger SZBKI	<i>V. vinifera</i> levél	2010
F11/22	Eger SZBKI	<i>V. vinifera</i> levél	2011
FSZBKI	PTE SZBKI	<i>V. vinifera</i> levél	2011
P1	PTE SZBKI	<i>V. vinifera</i> levél	2014
P2, P3	PTE SZBKI	<i>V. vinifera</i> bogyó	2014

4.1.1. *G. bidwellii* izolátumok morfológiai azonosításának eredményei

A *G. bidwellii*-t elsősorban a makroszkópikus tünetei (ld. 2.3.2) alapján szokták azonosítani, emellett mára jól dokumentált az *in vitro* tenyésztésben lévő gomba és konídiumainak morfológiai megjelenése (KONG 2009). A mikológiai vizsgálatokhoz a tenyészeteket ½ PDA és zabliszt agar táptalajon tartottuk fent. A micélium növekedési üteme és a telepek foltos, rendszertelen formája egyezett az irodalmi leírásokban találtakkal. A telepeken a piknídiumok kialakulása a 7. naptól volt megfigyelhető, 14 nappal az indításuk után már mindegyiken kifejlődtek a termőtestek, melyekből konídiumokat sikerült leszedni az azonosításhoz. A több időpontban és helyszínen begyűjtött fertőzött szőlőlevelekről indított izolátumok mindegyike egységesen növekedett a táptalajon, és morfológiailag is megegyeztek.

Az *in vitro* nevelt telepeket elsőként morfológiai szempontok alapján azonosítottuk be, mint *G. bidwellii*. A Pécssett 2014-ben begyűjtött és monospóras tenyészetként indított gomba minták morfológiailag egyeztek a korábbi begyűjtésekből származó *G. bidwellii* izolátumokkal, valamint a referenciaként Svájcban megrendelt DSMZ génbankjából származó *G. bidwellii in vitro* nevelt telepeivel (22. ábra). A mikológiai vizsgálatához az általunk indított és a génbankból kapott izolátumokat, valamint a 14. napon leszűretelt spórákat a PTE Általános és Környezeti Mikrobiológiai Tanszékén azonosítottuk be. A konídiumok fénymikroszkóp alatt tojásdad, vagy ellipszis alakúak voltak, méretük megegyezett a korábbi irodalmi adatokkal (5-12 × 4-7 µm közötti).



22. ábra *G. bidwellii* DSMZ-től származó (A) és saját begyűjtésből izolált (B) telepei ZAB táptalajon a 21. napon 25 °C-on nevelve, 2015, Pécs.

4.1.2. A *G. bidwellii* izolátumok molekuláris azonosítása

A négyéves teszt sorozatok során két alkalommal ellenőriztük vissza molekuláris azonosítással a fertőzésekhez felhasznált gomba izolátumainkat. Elsőként a 2010-2011 között Egerben begyűjtött gomba izolátumokból vontak ki DNS-t a KRF Szőlészeti Kutatóintézetében, majd meghatározták az rDNS ITS-régióinak szekvenciáit, melyek valamennyi vizsgált izolátumban azonosak voltak. Az izolátumokból kapott ITS szekvenciák a GenBank adatbázisában a vadszőlő (*Parthenocissus* spp.) leveleiről más országokban izolált *G. bidwellii* törzsek ITS-szekvenciáival mutatták a legnagyobb hasonlóságot (VÁCZY et al. 2012).

A Pécsen 2014-ben indított és *in vitro* fenntartott tenyészetekből 2016-ban történt újabb molekuláris visszaellenőrzés Egerben, melyet Dr. Karácsony Zoltán végzett el kérésünkre. Ez alkalommal a tenyészetekből riboszomális DNS nagy alegység (LSU) izolálása és szekvenálása történt. A nemzetközi génbank adatbázisában végzett szekvencia illesztéssel az általunk izolált minták (9.4. melléklet) a legnagyobb szekvencia egyezést a *G. bidwellii* (CBS 237.48) szekvenciával mutatták, amint az a 9.5. mellékletben látható. A molekuláris eredmények igazolták, hogy a mesterséges fertőzési kísérletekhez felhasznált tenyészetek ténylegesen a feketerothadást okozó *G. bidwellii* gombával azonosak.

4.1.3. Táptalajkísérletek eredményei

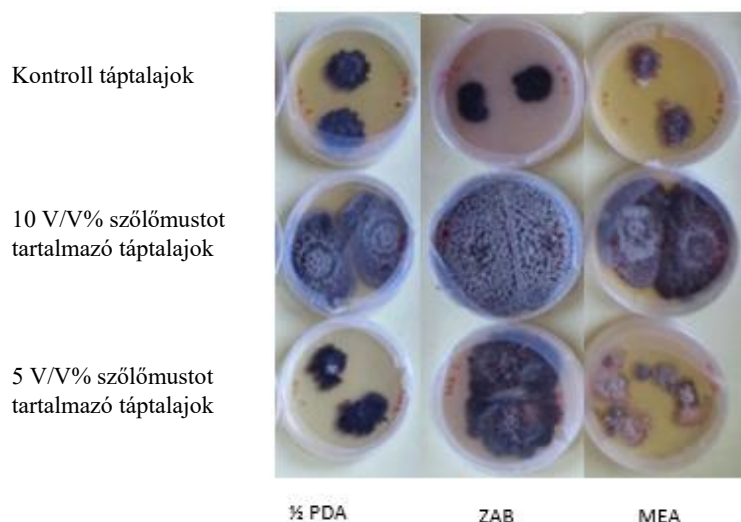
A *G. bidwellii* növekedését kezdetben feles erősségű burgonya dextróz ($\frac{1}{2}$ PDA), zabliszt alapú (ZAB) és maláta kivonatos (MEA) táptalajon vizsgáltuk, mivel szakirodalmi adatok alapján mindhárom táptalajon sikeresen tartották fent a kórokozót. A Pécsen általunk kialakított gombatenyésztő berendezésben mindhárom táptalajon a leírtaknak megfelelően növekedtek a tenyészetek. Fejlődésükhöz biztosítottuk az optimális 25-27 °C hőmérsékletet. A különböző táptalajokon a *G. bidwellii* eltérő szerkezetű telepmorfológiáját figyeltük meg (23. ábra).



23. ábra *In vitro* nevelt *G. bidwellii* telepmorfológiája különböző összetételű (A: $\frac{1}{2}$ PDA; B: ZAB; C: MEA) táptalajokon, Pécs, 2015.

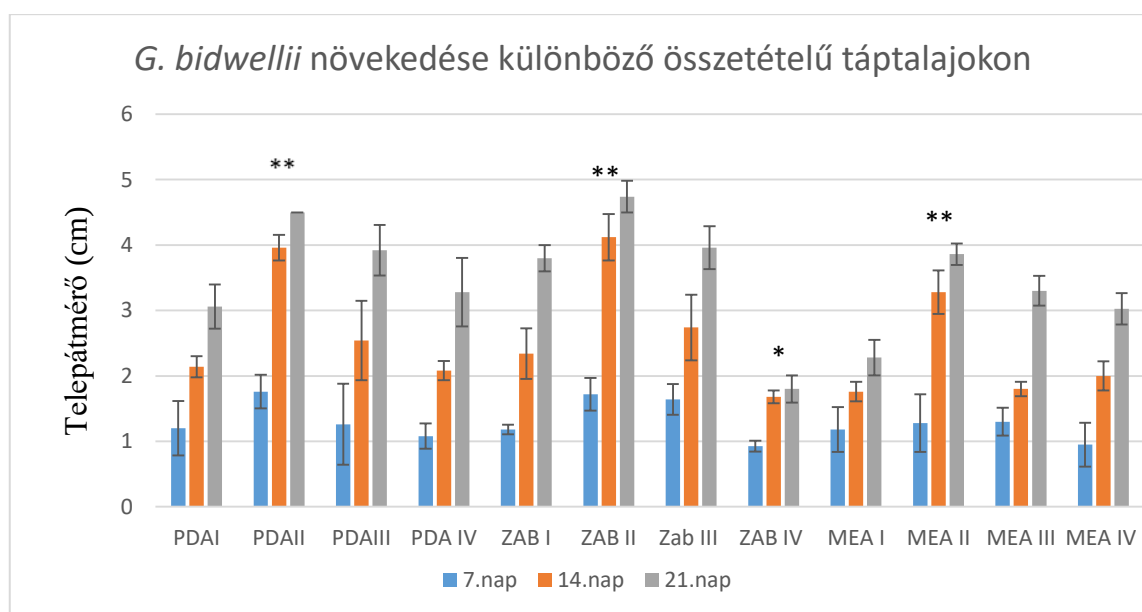
A *G. bidwellii* telepmorfológiája mindhárom táptalajon az irodalmakkal megegyező módon alakult. A zabliszt agaron növekvő telepek belső gyűrűjének morfológiája, hasonló volt a másik kettőhöz, de a külső világosabb színű részek erősen zónázottak és eltérő szerkezetűek voltak. Ezeken a gyűrűs részeken is kialakultak a piknídiumok, de sűrűbb fehér szövedék (gombafonalak) fedte azokat. A *G. bidwellii* növekvő micéliuma kezdetben pelyhes, törtfehér színű, majd fokozatosan sötétedő, végül sötétszürkére, feketére színeződik. A koncentrikus zóna az inokulációs zónák körül mindhárom táptalajon egységesen megfigyelhető volt.

A telepek sporulációja az inokulációt követő 10. naptól indult meg és a 14-21. napok között érte el csúcspontját táptalajtól függően. Ebben az intenzíven sporuláló időszakban a telepek átmérője 2-3 cm között mozgott a 9 cm átmérőjű Petri-csészében. A táptalaj kísérletek során az alaptáptalajok szolgáltak kontrollként, ezekhez képest mértük valamennyi alaptáptalajnak az 5 V/V% szőlőmustot, 10 V/V% szőlőmustot és 25%-os tejsavat tartalmazó változatainak a gombatelepek növekedését. Az egy Petri-csészére oltott 2 telepdarabka egymás optimális ismétlései. A telepek növekedésének mértékét feljegyeztük az inokulációt követő 7. 14. és 21. napon, amit a 6. táblázat mutat be. A telepekre a hullámos szél és az erős zónázottság volt jellemző. A micélium kezdetben tört fehér színű, majd az idő múlásával szürkülő, végül feketére színeződő telepek növekedtek. Ez megegyezett a referencia telepek növekedésével és telepmorfológiájával is. A MEA táptalajokon a telepek deformáltabban növekedtek és halványabb színűek voltak, gyengébben fejlődtek a piknídiumok is. Ezen a típusú táptalajon láttuk a legvilágosabb színű, esetenként fehérpelyhes telepeket (24. ábra). A 25%-os tejsavat tartalmazó tápközegeken (PDAIV, ZABIV, MEAIV) a telepek egyenetlenül és kismértékben növekedtek. A zabliszt táptalaj esetében kisebb növekedést értünk el a 25%-os tejsavval kiegészített közeggel, mint a kontroll alaptáptalajnál. Az 5 térfogatszázalékban mustot tartalmazó táptalajokon (PDAIII, ZABIII, MEAIII) a kontroll alap táptalajhoz (PDAI, ZABI, PDAI) viszonyítva nem volt megfigyelhető szignifikánsan nagyobb telepek fejlődése ($p > 0,05$), egyes esetekben fokozta ugyan a micélium növekedést, de a tenyészeteknél gyakran tapasztaltunk torzulást a telepek alakjában (24. ábra).



24. ábra *G. bidwellii* 21 napos *in vitro* telepeinek növekedése különböző táptalajokon 2015, Pécs.

A micélium növekedésének intenzitását figyelembe véve, a statisztikai elemzés alapján leggyorsabb növekedést a 10% musttal kiegészített táptalajokon figyeltük meg, itt minden esetben a kontroll táptalajhoz képest szignifikáns különbséget találtunk (25. ábra). A telepátmérők ezeken a táptalajokon már a 14. napra elérték a 4 cm-t, míg a PDAII és ZABII táptalajokon a 21. napra teljesen benőtték a Petri-csészét, ezért a gomba növekedése is lelassult.



25. ábra *G. bidwellii* micélium telepátmérők átlagainak alakulása a 7., 11. és 21. napon a különböző típusú táptalajokon (* $p < 0,05$ ** $p < 0,001$).

4.1.4. Fertőzőanyag előállítása és ellenőrzése

Az *in vitro* fenntartott *G. bidwellii* telepekről a 3.1.5.1. pontban ismertetett protokoll szerint rutinszerűen nyertük ki a konídium szuszpenziót, majd a koncentráció beállítása után felhasználtuk a mesterséges fertőzési kísérletekhez.

4.1.4.1. A fertőzőanyag patogenitásának ellenőrzése

Az *in vitro* fenntartott gombatelepek patogenitásának tesztelését minden fertőzési évben elvégeztük a kontroll egyedeken. Az előre meghajtatott növényeket április folyamán fertőztük. A feketerothadásra jellemző tünetek a növények 95-100%-án kialakultak, ami igazolta a tenyészetek kellő agresszivitását a fertőzési kísérletek kivitelezéséhez.

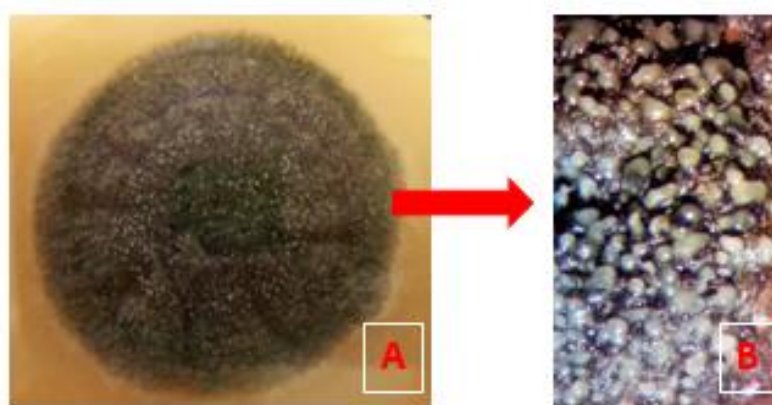
4.1.4.2. Spórulációs kísérlet eredménye

Az izolátumok makromorfológiája a kísérletben szereplő táptalajokon a korábbiakban leírtaknak megfelelő volt. A gombatelepek növekedését és a sporuláció mértékét 2015-ben az inokulációt követő 14. és 21. napokon az 6. táblázat tartalmazza.

6. táblázat *G. bidwellii* micélium telepátmérői és a tenyészetek sporulációjának felmérése az inokulációt követő 14. és 21. napon.

Táptalaj	inokulálást követő 14. nap		inokulálást követő 21. nap	
	telep átmérő (cm)	sporuláció intenzitása	telep átmérő (cm)	sporuláció intenzitása
PDAI alap + élesztő	2,2	jó	2,7	jó
	2,4	jó	3,7	jó
	2,1	jó	2,9	jó
	2,1	jó	3	jó
	1,9	jó	3	intenzív
PDAII alap + 10 %must	4	gyér	4,5	gyenge
	4	gyenge	4,5	gyenge
	3,6	jó	4,5	jó
	4	gyenge	4,5	jó
	4,2	gyér	4,5	gyér
ZABI alap + élesztő	2,2	gyér	3,7	gyér
	3,1	jó	4,1	intenzív
	2,2	gyér	3,9	gyenge
	2	gyér	3,5	gyenge
	2,2	gyenge	3,8	jó
ZABII alap + 10% must	4	jó	4,8	intenzív
	4,5	jó	5	jó
	3,5	intenzív	4,3	intenzív
	4,2	intenzív	4,7	intenzív
	4,4	jó	4,9	intenzív
MEAI alap + élesztő	1,9	gyér	2,1	gyenge
	1,7	gyér	2,1	gyér
	1,5	gyér	2	gyenge
	1,9	gyér	2,5	gyér
	1,8	gyér	2,7	gyér
MEAII alap + 10% must	4,2	gyér	4	gyér
	3,9	gyér	3,9	gyér
	3,2	gyér	3,6	gyenge
	3,9	gyenge	3,7	gyenge
	3,9	gyér	3,6	gyér

A legkorábban az inokulációt követő 7. napon a ZABII táptalajon növekvő telepek kezdték meg a sporulációt, ezt követték a PDAI táptalajon a 8-9. napon sporulálni kezdő piknídiumok. A 14. napig csak a MEAI és MEAII-es talajokon nem (vagy csak egyes esetekben) figyeltünk meg sporulációt (6. táblázat). A legintenzívebb és az egész telep felületén megfigyelhető spóra kiáramlást a ZABII táptalajon tapasztaltuk. A 14. napon és a 21. napon minden ismételtsben a sporuláció mértéke meghaladta az 50%-t, kivéve egy esetben, ahol csak a piknídiumok 40%-a volt aktív. Szabad szemmel is jól látható mértékű volt a spórák kiáramlása a ZABII táptalajon (26/A. ábra), míg a mikroszkópos felvételt a (26/B. ábra) mutatja.



26. ábra Szabad szemmel látható *G. bidwellii* spórakiáramlások (A) és annak mikroszkópos nagyítása (B) a ZABII táptalajon az inokulálást követő 21. napon, 2015, Pécs.

A PDAII a kontroll PDAI-hez képest kisebb mértékű sporulációt mutatott. A telepek a 14. napra kétszeresére nőttek a kontroll telepekhez képest, de sporulációjuk csak kezdetleges, gyenge mértékű volt. A 21. napra a tenyészetek elérték a növekedési csúcsukat, de csak egyes telepek sporuláltak jól (40-60%), míg a többi gyenge sporulációt mutatott. A MEAII táptalajokon fejlődő telepeken a kontroll MEAI-hez képest nem tapasztaltunk változást a *G. bidwellii* sporulációjában. A piknídiumok a 14. napon csak alig, vagy egyáltalán nem sporuláltak, ezt követően a 21. napra is csak a piknídiumok 10-20%-a sporulált.

4.2. Fertőzési kísérletek eredményei

4.2.1. Mesterséges levélfertőzések eredményei klímaszobában

A begyűjtött és gyökeresített génbanki dugványok leveleit az első két évben (2014 és 2015) több alkalommal fertőztük a *G. bidwellii* gomba konídiumaival. 2017-ben a korábbi teszt alkalmakkor nagyon fogékonynak ítélt (1-es kategória) hibridek újbóli tesztelését nem tartottuk fontosnak, ezért ezeket a növényeket kivettük a vizsgálatokból. A tesztelt genotípusok mesterséges levélfertőzésének három egymást követő évében kapott eredményeit táblázatos formában foglaltuk össze. Itt minden fertőzési alkalommal az értékelési időpontban egy bonitálási értéket

adtunk meg - átlagolva a genotípus és annak ismételtsével kapott fenotípusos értékét - a nagymennyiségű számadat könnyebb kezelhetőségének érdekében. A növényeket egységesen neveltük, de a genotípusok közötti növekvésben való különbségek miatt, egyidőben nem sikerült minden dugványt lefertőzni. Ezeket az éppen fertőzéshez nem alkalmas állapotú növényeket nem tesztelt megjegyzéssel jelöltük a táblázatokban. A 7. táblázat az eredeti Franciaországban előállított franko-amerikai hibridek tesztelésének eredményeit mutatja be.

A tesztelt 12 db Seibel, Seyve-Villard hibrid levélfertőzések 2014-ben 3 fajta mutatott ellenállóságot, míg a másik 9 fajta fogékonynak bizonyult a feketerothadással szemben. 2015-ben és 2016-ban a fajták tesztelésének ismételtségekor a 'S 7053' és az 'SV 5276' tartotta meg a magas fokú lombrezisztenciáját, minden fertőzési alkalommal. 7 fajta került a nagyon fogékony csoportba és 3 fajta a mérsékelten fogékony csoportba.

7. táblázat Seibel és Seyve-Villard hibridek feketerothadás levélrezisztencia bonitálási értékei 2014 és 2016 között, Pécs, klímaszoba.

Fajta/ Genotípus	2014			2015		2016	
	Június	Július	Augusztus	Május	Június	Június	Augusztus
S 7053	9	-	9	9	9	9	8
SV 5276	9	5	9	9	7	7	9
SV 12286	-	3	-	-	1	-	-
SV 12303	-	1	-	-	1	-	-
SV 12358	-	1	-	1	-	-	-
SV 12364	-	3	-	1	-	-	-
SV 12375	3	5	-	5	-	4	-
SV 12390	-	1	1	-	1	-	-
SV 18315	-	7	7	4	-	3	3
SV 20365	-	5	2	1	-	-	-
SV 20473	-	5	3	3	3	-	-
SV 23657	1	1	-	1	-	-	-

(Feketerothadás levélrezisztencia bonitálási skála értékei: 9: tünetmentes rezisztencia; 8-7: magas fokú rezisztencia; 6-5: közepes rezisztencia; 4-3: alacsony rezisztencia; 2-1: nagyon alacsony rezisztencia; -: nem tesztelt)

A 8. táblázatban az eredeti francia termő hibridek (Seibel és Seyve-Villard sorozatok) felhasználásával Magyarországon, Németországban, Bulgáriában, Moldáviában, Csehországban visszakeresztezési programokban előállított hibridek, fajták mesterséges levélfertőzéseinek eredményei szerepelnek. Az első tesztévben 19 genotípust soroltunk a magas fokú (7-9-es kategória), 9 genotípust a mérsékelten rezisztens (5-ös kategória) és 30-at a fogékony, nagyon fogékony csoportba (1-3-as kategória). A további mesterséges fertőzések alkalmával a magas fokú rezisztens csoportba csak 3 fajta került a 'Csillám', a 'Felicia' és 'Merzling'. Közepesen ellenállónak találtuk a 'Teréz', 'Villaris' és 'GM318-57' egyedeket, míg a többi genotípus az egyes tesztelés során nagyfokú fogékonyt mutatott a gombával szemben.

8. táblázat Seyve-Villard hibridek származékainak feketerothadás levélrezisztencia bonitálási értékei 2014 és 2016 között, Pécs, klímaszoba.

Fajta/ Genotípus	2014		2015		2016	Fajta/ Genotípus	2014		2015		2016
	06	07	05	06	06		06	07	05	06	06
Vértess csillaga	1	-	-	1	-	E 350	-	1	1	-	-
Ecs 3	-	5	1	-	-	Teréz	-	8	9	6	4
Ecs 5	-	9	3	-	-	Esther	-	1	-	3	-
Ecs 9	-	9	1	-	-	V25/20	-	3	9	9	1
Ecs 16	-	5	1	-	-	Moldova	-	7	9	3	1
Ecs 18	3	-	-	1	-	MM2	-	1	-	1	-
Ecs 20	-	3	-	-	-	MM20	-	9	4	-	3
Ecs 22	-	5	1	-	3	MM21	-	1	-	3	-
Zalagyöngye	-	9	3	-	1	MM25	-	5	1	-	-
Ecs 26	-	9	3	-	-	MM27	-	-	4	-	1
Lakhegyi mézes	-	3	-	-	-	MM31	-	3	-	1	-
Ecs 32	-	9	1	-	1	MM32	-	1	1	-	-
Göcseji zamatos	3	-	-	1	-	MM44	1	-	1	-	-
Zalán	-	1	-	1	-	MM42	-	1	-	1	-
Ecs 38	-	1	1	-	-	MM55	-	1	-	1	-
Bianca	1	1	1	-	1	MM57	-	1	-	-	-
Ecs 42	-	3	-	1	-	MM58	-	7	3	-	-
Ecs 44	-	7	3	-	3	Viktória gyöngye	-	9	-	3	1
Ecs 46	-	5	1	-	-	Csillám	9	9	9	9	9
Ecs 48	3	-	1	-	-	Felicia	7	5	9	-	8
Isaura	-	1	-	1	-	Villaris	9	7	5	-	5
Néró	-	3	1	-	-	Regent	3	9	1	-	-
Suzy	-	9	-	3	-	Reberger	-	5	1	-	-
E 313	-	3	1	-	-	Calandro	-	5	1	-	-
E 338	-	9	3	-	3	Merzling	5	-	9	-	8
E 352	1	1	1	-	-	Fr. 13-12-10	1	1	-	-	1
E 411	-	9	3	-	1	GM318-57	9	7	7	5	4
E 344	-	1	-	-	-	GM322 58	1	7	3	-	-
E 345	-	1	1	-	-	GM78-10-8	-	3	9	-	1
E 346	-	3	3	-	-	Malverina	-	8	5	7	4

(Feketerothadás levélrezisztencia bonitálási skála értékei: 9: tünetmentes rezisztencia; 8-7: magas fokú rezisztencia; 6-5: közepes rezisztencia; 4-3: alacsony rezisztencia; 2-1: nagyon alacsony rezisztencia; -: nem tesztelt)

A 9. táblázatban a Kelet-Ázsiai térségből származó *V. amurensis* faj felhasználásával készült magyar nemesítésű F2, BC1 és BC2 hibridek és két *V. amurensis* F1 feketerothadás mesterséges levélfertőzésének eredményeit mutatjuk be. Ebben a csoportban 4 hibridnél figyeltük meg a feketerothadással szembeni ellenállóságot a levelek tesztelése során, melynek mértéke a mérsékelt rezisztenciától a tünetmentes ellenállóságig terjedt. A többi hibrid esetében egyértelmű fogékonyságot tapasztaltunk a fertőzések hatására.

9. táblázat *V. amurensis* felhasználásával készített hibridek feketerothadás levélrezisztencia bonítási értékei 2014 és 2016 között, Pécs, klímaszoba.

Fajta/ Genotípus	2014			2015		2016	Fajta/ Genotípus	2014			2015		2016
	06	07	08	05	06	06		06	07	08	05	06	06
13-5/17	3	-	-	1	-	-	15-11-6	-	3	-	9	3	5
Kabera	-	3	-	3	-	-	Kunbarát	1	-	-	1	-	-
5-4-6	1	3	-	-	-	-	Petra	1	-	1	-	1	1
5-10-6	-	9	-	7	9	9	Toldi (C50)	-	3	-	1	-	-
5-11-2	-	9	-	7	9	7	EB13	-	5	-	1	-	-
5-11-6	-	9	4		9	9	Jázmin	3	-	1	-	3	-
5-14-5	1	-	-	-	1	-	4/2	1	-	-	-	1	-
5-16-3	-	9	-	-	1	3	20/3	-	1	-	1	-	3
5-21-1	3	-	-	-	1	-	28/9	-	5	-	1	-	-
5-23-5	3	-	-	-	2	-	39/1	3	-	3	-	-	-
15-7-1	-	-	-	-	5	6	54/2	1	-	1	-	-	-
15-8-3	-	7	-	1	-	-	13-3/6	1	-	-	1	-	1
15-10-1	-	5	-	1	-	-	Panonija	-	5	-	9	3	1

(Feketerothadás levélrezisztencia bonítási skála értékei: 9: tünetmentes rezisztencia; 8-7: magas fokú rezisztencia; 6-5: közepes rezisztencia; 4-3: alacsony rezisztencia; 2-1: nagyon alacsony rezisztencia; -: nem tesztelt)

A 10. táblázatban szintén mesterséges feketerothadás levélfertőzések eredményeit mutatjuk be a Pécsen előállított több szőlő faj kombinálásával készült komplex, minőségi hibridek esetében, valamint 2 *V. vinifera* fajta, egy direkttermő fajta ('Jaquez') és a kontrollként alkalmazott 'Börner' alanyfajta, valamint az *M. rotundifolia* magoncon keresztül. Ebben a csoportban magas fokú feketerothadás lombrezisztenciát csak a két kontroll növény esetében kaptunk. Az ismerten rezisztens 'Börner' tünetmentesnek bizonyult, ahogy a *M. rotundifolia* magoncán sem tapasztaltunk tüneteket feketerothadás fertőzést követően. A többi tesztelt genotípus egyöntetűen a fogékony vagy nagyon fogékony kategóriába került.

Összesítve a génbanki növényanyag a *G. bidwellii* gombával szembeni levél tesztelések eredményét a genotípusok jelentős része (96 genotípus) került az 1-3 kategóriába, vagyis nem rendelkezik feketerothadással szembeni ellenállósággal. A vizsgált genotípusok kisebb hányada, 15 genotípus rendelkezett feketerothadással szembeni levél ellenállósággal (4-9 kategória). Ezek közül kiemelkedik a 'Csillám' és a 'S 7053' ('Chancellor'), ez a két fajta minden tesztelési alkalommal a legmagasabb fokú rezisztencia kategóriába került (8-9-es kategória).

10. táblázat Pécsi fajtajelöltek és egyes genotípusok feketerothadás levélrezisztencia bonitálási értékei 2014 és 2016 között, Pécs, klímaszoba.

Fajta/ Genotípus	2014			2015		2016	
	06	07	08	05	06	06	08
05-4-1/6	-	3	1	-	1	-	-
01-1-768	1	1	-	1	-	-	-
01-1-808	-	3	1	-	-	-	-
07-6-1/2	3	1	-	1	-	-	-
07-6-12/1	1	1	-	-	1	-	-
05-2-31/4	-	1	-	1	-	-	-
99-1-48	-	1	3	-	1	-	-
04-7-29/3	3	1	-	-	1	-	-
Jaquez	3	-	-	1	-	-	-
Kahet	-	3	1	1	-	3	-
Kismis vatkana	5	-	-	1	-	3	-
Börner	9	9	8	9	7	9	-
<i>M. rotundifolia</i>	-	9	-	9	-	9	-

(Feketerothadás levélrezisztencia bonitálási skála értékei: 9: tünetmentes rezisztencia; 8-7: magas fokú rezisztencia; 6-5: közepes rezisztencia; 4-3: alacsony rezisztencia; 2-1: nagyon alacsony rezisztencia; -: nem tesztelt)

A Pécsi Génbanki és nemesítési tételek mellett értékeltük a Grúzia területéről származó 57 fajta feketerothadás rezisztenciáját 2014-ben és 2015-ben. A két év eredményeit a 11. táblázatban foglaltuk össze. A megadott értékek az egy év során elvégzett ismétlések átlagát jelentik. 2014-ben mérsékelt ellenállósággal (5-ös kategória) három fajta rendelkezett az 'Odjaleshi', 'Gorula' és 'Muradouli'. Ezek mellett mérsékelt tünetek (4-es kategória) fejlődtek ki további 9 fajta esetében, a többi egyöntetűen fogékony (1-3) kategóriába került. A második évben 9 olyan fajtát találtunk az értékelések során, melyen nem jelentek meg tünetek. A fertőzéskor azonban ezek közül nem minden egyed volt intenzíven növekvő, zsenge levelű állapotban. Ezek mellett az 'Odjaleshi' és 'Kharistvala meskhuri' fajták közepes ellenállóságot mutattak. A többi fajta ismét erősen fertőződött, s az 1-3 kategóriába került. 2016-ban az eredmények tisztázása érdekében újra teszteltünk 16 fajtát. Értékeléskor az 'Odjaleshi' és 'Muradouli' fajták mutattak csak mérsékelt szintű ellenállóságot. A tünetek kisebb méretű foltokban jelentkeztek és a bennük kifejlődő piknídiumok száma is mérsékelt volt. A maradék 14 fajta fogékony kategóriába került újra. A dugványok jelentős részénél gondot okozott az inkubációs idő alatt megjelenő lisztharmat fertőzés.

11. táblázat Grúziából származó *V. vinifera* fajták feketerothadás levélrezisztenciájának bonitálási eredményei 2014 és 2016 között, Pécs, klímaszoba.

Pécsi Kód	Fajta neve	2014		2015		2016
		július	augusztus	május	június	május
129-1/1	Chkhaveri	1	1	-	9	3
129-1/2	Kamuri tetri	1	4	3	3-4	3
129-1/3	Skhilatu bani	1	4	1	1	-
129-1/4	Samakhi	3	3	-	1	-
129-1/5	Noshrio	1	1	1	1	-
129-2/6	Sakmevela	5	5	1	1	-
129-2/7	Odjaleshi	5	5	5	6	5
129-2/8	Shonuri	4	4	1	3	3
129-2/9	Zerdagi	1	1	-	-	3
129-4/12	Bazaleturi Tsolu kouri	4	3	-	3	3
129-4/13	Tsitska	1	1	3	3	-
129-5/14	Krakhuna	3	3	1	1	-
129-6/17	Argveturi sapere	3	3	9	-	1
129-6/18	Tsoulikouri	3	3	1	1	-
129-7/20	Chkhikhoura	1	1	3	3	-
129-7/21	Kapistoni tetri	4	3	1	3	4
129-7/22	Shvtsistka	1	1	3	3	-
129-8/23	Dziragoulis shavi	1	1	1	1	-
129-8/24	Khrogi	1	1	1	1	-
129-8/25	Orbeluri ojaleshi	1	1	3	1	-
129-9/26	Dzaghlarchama	1	1	-	-	-
129-9/27	Ghvinis tetri	4	4	3	3	3
129-9/28	Kakhis tetri	4	4	1	-	-
129-9/29	Chitistvala bodburi	1	1	3	1	-
129-9/30	Tsnoris tetri	3	1	-	3	-
129-10/31	Kisi	1	1	3	3	-
129-11/32	Buera	1	1	1	9	1
129-11/33	Okroula	3	3	1	1	-
129-11/34	Zakatalis tetri	1	1	1	3	-
129-11/36	Zhghia sagviano	1	1	3	4	-
129-12/37	Ghvinis tsiteli	1	1	-	9	3
129-12/38	Buza	1	1	-	-	-
129-12/39	Asuretuli shavi	1	1	1	1	-
129-12/40	Djvari	1	1	-	9	3
129-12/41	Pitra	3	3	1	1	-
129-13/42	Pirghebuli tetri	1	1	1	-	-
129-13/43	Budeshuri tsiteli	1	1	3	3	-
129-13/44	Meskhuri shavi	3	3	3	3	-
129-13/45	Tkvlapa shavi	3	3	3	3	-
129-14/46	Kishuri	1	1	3	3	-
129-14/47	Chkapa	4	4	3	3	4
129-14/48	Gorula	4	4	-	9	3
129-14/49	Ghrubela kartlis	1	1	3	3	-
129-15/50	Meskhuri mtsvane	1	1	1	-	-
129-16/53	Kharistvala meskhuri	1	1	-	7	3
129-16/54	Budeshuri tetri	3	3	-	9	3
129-16/55	Shavkapito	1	1	1	1	-
129-16/56	Goruli mtsvane	4	4	1	1	-
129-16/57	Chinuri	1	1	3	3	-
129-17/58	Melikuda kartlis	1	1	1	1	-
129-17/59	Gomis tetri	1	1	1	1	-

11. táblázat folytatása Grúziából származó *V. vinifera* fajták feketerothadás levélrezisztenciájának bonitálási eredményei, Pécs, klímaszoba.

Pécsi Kód	Fajta neve	2014		2015		2016
		július	augusztus	május	június	május
129-17/60	Muradouli	4	-	6	9	5
129-18/62	Saperavi atenis	1	1	1	3	-
129-18/63	Saperavi	3	3	1	-	-
129-18/64	Tavkveri	1	1	1	1	-
129-19/65	Kartlis tita	1	1	1	-	-

(Feketerothadás levélrezisztencia bonitálási skála értékei: 9: tünetmentes rezisztencia; 8-7: magas fokú rezisztencia; 6-5: közepes rezisztencia; 4-3: alacsony rezisztencia; 2-1: nagyon alacsony rezisztencia; -: nem tesztelt)

Ezen dolgozat tervezésekor 2013-ban vetettük el a **12-14-es** csalás, a **BR5** (*V. cinerea* 6524-219 x *V. vinifera* cv 'Tannat') öntermékenyítéséből származó magjait. Ebben az évben (2013) még nem állt rendelkezésre a tesztelésekhez kialakított klímaszoba, ezért csak előteszteléseket végeztünk. Egy „fatengelyes” módszerrel kiépített nedvesítési lehetőséget biztosító fedett medencét építettünk ki, amit mesterségesen megvilágítottunk, de a hőmérsékletet és páratartalmat nem tudtuk precízen szabályozni. Az első mesterséges tesztfertőzéseket 2013. 06. 13-án 308 magoncon végeztük el. Az első feketerothadás tünetet az inokulálást követő 13. napon találtuk meg. A magoncok több mint felén nem találtunk feketerothadás tünetet, míg 18 egyeden apró méretű, piknídium mentes foltok alakultak ki. 26 magoncot soroltunk levéltünetei alapján a mérsékelt ellenállóságú csoportba. Közel 100 magoncon tapasztaltunk súlyosabb feketerothadás tüneteket a leveleken, ezért az 1-3-as kategóriákba soroltuk azokat. Kontrollként szintén 2013-as vetésű **12-12-es** (01-1-797 x 3502/25) család magoncait használtuk fel. A család Pécssett készült 2012-ben mindkét szülő fogékony volt a feketerothadással szemben. A megfertőzött 48 egyeden feketerothadás tüneteket kaptunk, minden magonc nagyon fogékonnak bizonyult a teszteléskor.

A 308 db magonc tesztelésének ismétlését és az első évben kimaradt magoncokat 2015 és 2017 között újra fertőztük az addigra már kiépített klímaszobában. A három évben kapott klímaszobás tesztelés rezisztencia értékelését a 12. táblázat tartalmazza.

A klímaszobában fertőzött és értékelt magoncok tesztelése alatt 15 egyednél találtunk magasabb fokú feketerothadás ellenállóságot (6-9-es kategória) és 29 magoncnál figyeltük meg egy mérsékeltebb fokát a rezisztenciának (4-6 kategória), minimum két éves teszteredmények alapján. A többi fertőzött magonc legalább egy fertőzési alkalommal nagymértékű fogékonytságot (1-3 kategória) mutatott a feketerothadással szemben.

12. táblázat A **12-14-es** hibridcsalád (*V. cinerea* x *V. vinifera* cv."Tannat") mesterséges feketerothadás levélfertőzéseinek eredményei, Pécs, klímaszoba. (9: tünetmentes rezisztencia; 8-7: magas fokú rezisztencia; 6-5: közepes rezisztencia; 4-3: alacsony rezisztencia; 2-1: nagyon alacsony rezisztencia; -: nem tesztelt)

Növény	2015	2016	2017	Növény	2015	2016	2017	Növény	2015	2016	2017	Növény	2015	2016	2017
10	7	6	4	58	4	5	3	112	3	3	3	171	7	3	-
11	1	3	1	60	4	3	4	113	7	-	5	173	9	-	3
12	4	4	4	63	9	-	8	115	3	3	1	174	3	4	3
13	3	3	3	64	9	3	3	116	-	-	4	175	3	3	1
15	3	1	3	70	4	3	3	118	5	1	1	179	1	1	3
16	1	1	1	72	5	3	3	119	1	-	6	180	4; 5	-	3
18	9	-	3	74	3	3	1	120	5	3	3	181	5	3	3
19	3	3	4	75	5	4	1	121	5	7	4	185	5	3	4
20	5	4	4; 3	76	3	3	6	122	9	-	3	187	3	-	-
21	3	3	3	79	1	-	3	124	-	6	5	188	9	-	6
22	3	3	3	82	3	3	3	126	7	4	6	190	3	3	3
26	1	4	3	89	6	3	3	129	3	-	7	191	3	-	1
27	4	3	3	90	5	-	5	132	3	3	3	193	1	3	3
28	3	-	-	91	5	3	3	134	9	-	3	194	7	4	6
29	3	3	3	92	5	3	3	137	9	3	3	195	7	5	1
30	8	3	6	94	9	3	3	138	9	6	-	196	-	-	1
32	3	3	3	95	7	-	9	139	3	3	3;1	199	9	7	-
33	5	-	5	96	-	3	4	140	3	1	1	200	1	5	3
34	1	3	1	97	4	-	3	142	3	1	1	201	4	-	1
36	5	7	7	98	4	3	3	143	3	3	1	202	7	3	3
39	1	3; 1	3	99	9	-	3	145	6	6	3	203	6	3	3
42	7	4	3	100	3	3	3	153	9	4	1	205	3	3	4
44	3	3	3	105	1	3	3	164	5	4	1	215	3	1	3
46	5	-	-	106	1	3	1	165	9	3	5	216	7	-	-
50	3	3	4	107	3	3	4	166	-	1	-	217	3	4	3
53	3	3	4	108	1	3	3	167	1	-	1	218	9	-	7; 8
54	3	5	3	110	1	1	3	169	9	-	1	219	9	-	-
55	7	7	4	111	7	-	3	170	4	3	4	223	-	4	3

12. táblázat folytatása A **12-14**-es hibridcsalád mesterséges feketerothadás levélfertőzéseinek eredményei 2015-2017 között, Pécs, klímazsoba

Növény	2015	2016	2017	Növény	2015	2016	2017	Növény	2015	2016	2017	Növény	2015	2016	2017
225	4	3	3	282	9	4	5	355	1	-	-	400	9	-	7
227	9	3	3	283	1	-	7	358	7	-	5	401	8	-	9
228	6	7	3	284	8	-	3	359	5	-	-	402	3	-	3
229	4	3	3	289	6	3	3	360	9	-	-	403	7	-	-
232	4	3	3	290	3	-	6	361	3	4	-	404	7	3	3
233	7	3	7	291	5	3	1	362	9	-	-	405	9	3	3
234	9	3	4	297	1	3	3	364	5	3	3	406	9	-	3
235	9	7	3	308	5;4	3	4	365	3	-	3	409	3	-	3
236	3	-	3	313	-	-	3	366	9	-	9	412	6	-	6
237	3	5	4	314	9	-	-	367	9	-	3	413	3	4	3
238	3	3	3	317	3	3	1	376	9	4	-	414	9	-	3
239	3	4	9	320	9	3	1	378	5	-	4	415	8	-	9
241	1	3	3	321	4	3	4	379	5	-	-	417	3	3	3
242	9	3	3	322	5	6	-	380	9	-	9	418	8	3	3
246	9	1	1	323	6	3-4	3	381	9	-	4	420	9	-	-
248	-	3	-	324	6	3	3	382	3	-	-	421	9	3	3
250	4	3	3	332	1	3	4	383	5	9	-	422	9	-	1
254	-	1	3	334	4	3	4	385	9	-	-	423	9	5	-
257	4	5	1	335	1	-	-	388	5	-	3	424	4	3	4
259	3	-	6	336	9	-	3	389	3	-	9	425	4	6	7
261	9	6	7	338	8	-	-	391	9	-	-	427	9	3	3
263	9	6	-	339	3	1	1	392	3	-	-	428	3	-	-
266	-	-	5	340	3	1	3	393	3	6	3	433	3	-	9
267	3	3	3	343	9	-	-	395	1	-	5	441	7	-	-
269	1	1	3	344	7	-	1	396	9	3	3	442	9	-	3
270	3	-	3	345	8	-	-	397	3; 4	3	3	443	3	-	1
271	7	5	3	347	7	4	3	398	7	-	1	444	7	-	4
275	9	-	8	351	9	-	-	399	9	5	3	445	9	3	5

12. táblázat folytatása A **12-14-es** hibridcsalád mesterséges feketerothadás levélfertőzéseinek eredményei 2015-2017 között, Pécs, klímaszoba

Növény	2015	2016	2017	Növény	2015	2016	2017
447	5	-	6	493	5	5	-
449	6	4	4	497	3	3	3
450	3	3	3	500	-	6	5
451	9	-	-	501	1	7	-
452	5	3	4	502	7	1	3
453	7	-	1	503	5	4	3
454	3	-	4	505	5	-	6
455	3	-	-	506	3	-	3
459	3	-	1	511	5	3	-
460	3	-	3	512	3	-	5
461	7	-	3	519	1	4	5
462	1	-	1	520	9	3	-
463	9	3	3	521	7	5	-
464	4	-	3	526	9	4	4
465	5	4	5	527	7;6	-	-
471	9	-	6	528	4	3	3
473	8	-	3	529	9	-	-
475	9	-	-	530	9	6	9
477	1	-	-	531	7	4	3
478	9	1	3	532	6	-	-
480	7	3	9	533	7	-	3
482	6	-	3; 4	534	9	4	-
486	4	-	3	535	7	5	1
488	9	3	1	536	9	-	5
489	3	-	3	537	3	1	3
490	9	-	-	538	9	9	9
492	9	-	6	539	9	-	-

A 12-15-ös jelű BR10 (*V.berlandieri* x *V.vinifera* 'Fresno 58-22') öntermékenyítéséből származó hibridcsalád fertőzését 2015-2016-ban végeztük el. Összesen 52 egyed volt fertőzhető állapotban a magoncok közül. 2015-ben minden egyed egyöntetűen fogékonynak bizonyult. Az összes magonc zsenge levelén megjelentek a nagyméretű, piknidiumos feketerothadás tünetek. Második évi tesztelésükkor szintén a tesztelt magoncok közül 45 került az 1-es kategóriába, míg 3 egyeden csak mérsékeltbb tünetek jelentkeztek (4-5 kategória).

A 11-20-as hibridcsalád (BR16 (Galibert 114-10 x *V. rupestris* 65-43) x 'Chardonnay') magoncainak gyökeresített teszt dugványainak mesterséges klímaszobában történő fertőzését egymást követő három évben végeztük el, genotípusonként 3 ismételtsben (13. táblázat). A 2015-ben lefertőzött 43 db növényből 33 tünetmentesen rezisztens volt, 2 db mérsékelt ellenálló, és csak 8 egyeden jelentkeztek súlyosabb feketerothadás tünetek levelén. A 2016-os értékelésekor a családban nem találtunk mérsékelt ellenálló egyedeket. Ezzel szemben 32 növény újból tünetmentes rezisztenciát mutatott a feketerothadással szemben. Ezeken a növényeken nem találtuk a fertőzés jelét sem. 13 egyedet pedig az 1-3-as kategóriába soroltunk. A 2017-es tesztelések során a levélrezisztenciával rendelkező egyedek fertőzését ismételtük csak meg. 17 egyednél figyeltük meg a teljesen tünetmentes rezisztenciát és további 5 magoncnál tapasztaltunk magas fokú levél ellenállóságot. Korábbi években rezisztenciát mutató 5 genotípusnál azonban súlyosabb feketerothadás tüneteket láttunk, aminek oka lehet, hogy a növényeket nem minden teszt alkalommal sikerül egyforma fejlettségi állapotban lefertőzni. A **11-20-as** család 2015-ben és 2016-ban levélrezisztensnek bizonyult egyedei közül 23 magoncból létesítettünk 5 tőkés parcellákat szabadföldi megfigyelés céljából. Ezek a növények permetezetlen ültetvényben kerültek leoltásra, ahol 2017-ben közepes erősségű természetes feketerothadás nyomást figyeltünk meg, ezért alkalmunk volt szabadföldi feketerothadás levél és fűrt felvételezésre, a tőkék termesztési értékeinek megfigyelése mellett. A magoncok levelei és fűrtjei is tünetmentesek voltak az egész vegetáció során. A populációra a *V. rupestris* levélforma volt jellemző, azonban fűrtjei már távolabb álltak a vad fajtól. A leoltott magoncok tőkéi két kivétellel megfelelő hajtásszerkezettel, jó vigorral rendelkeztek. A 23-ból 5 egyed tőkéről sikerült kellő mennyiségű fűrtöt szüretelni borászati kísérletekhez 2017-ben. A bortételek érzékszervi kóstolásakor nem tapasztaltunk 'idegen' mellékízt, értékes aromákat viszont igen.

13. táblázat **11-20**-as család (**BR16** x 'Chardonnay') mesterséges feketerothadás levélfertőzésének eredményei 2015 és 2017 között, Pécs, klímaszoba.

Egyed	2015	2016	2017	Egyed	2015	2016	2017
	levél	levél	levél		levél	levél	levél
11-20-1	9	9; 9	9	11-20-30	-	9	-
11-20-2	9	3	-	11-20-31	9	9;9	9
11-20-3	9	9; 9	9	11-20-33	-	3	-
11-20-4	9	9;9	8;7	11-20-34	9	1	-
11-20-5	9	3	-	11-20-35	9	9	9
11-20-6	1	-	-	11-20-36	9	9	-
11-20-7	3	1	-	11-20-37	9	9;9	9
11-20-8	9	9	3	11-20-38	9	3;3	3
11-20-9	9	9;9	9	11-20-39	9	9	7
11-20-10	-	9	8	11-20-40	1	1	-
11-20-11	9	9;9	9	11-20-41	5	3;3	-
11-20-12	-	9;9	8; 9	11-20-42	7	9	9
11-20-13	7	9	7; 6	11-20-43	9	9	-
11-20-14	1	1	-	11-20-44	7	9;9	9
11-20-15	1	3	-	11-20-45	9	9;9	9
11-20-16	9	9	3	11-20-46	7	3;3	3
11-20-17	9	9;9	9	11-20-47	8	3	-
11-20-18	9	9	9	11-20-48	9	9; 9	-
11-20-19	9	3;3	-	11-20-49	1; 1	-	-
11-20-20	9	1	-	11-20-50	1	-	-
11-20-21	-	9	3	11-20-51	9	3	-
11-20-22	9	9;9	9	11-20-52	1	-	-
11-20-23	1	1	-	11-20-53	5	9	-
11-20-24	3	3	-	11-20-54	9	9	-
11-20-25	3	3	-	11-20-55	7	9; 9	9
11-20-26	9	3	-	11-20-56	9	9	-
11-20-27	9	9	8;9	11-20-57	9	3	-
11-20-28	9	9;9	7;8	11-20-58	9	9; 9	9
11-20-29	1;1	-	-				

(Feketerothadás levélrezisztencia bonitálási skála értékei: 9: tünetmentes rezisztencia; 8-7: magas fokú rezisztencia; 6-5: közepes rezisztencia; 4-3: alacsony rezisztencia; 2-1: nagyon alacsony rezisztencia; -: nem tesztelt)

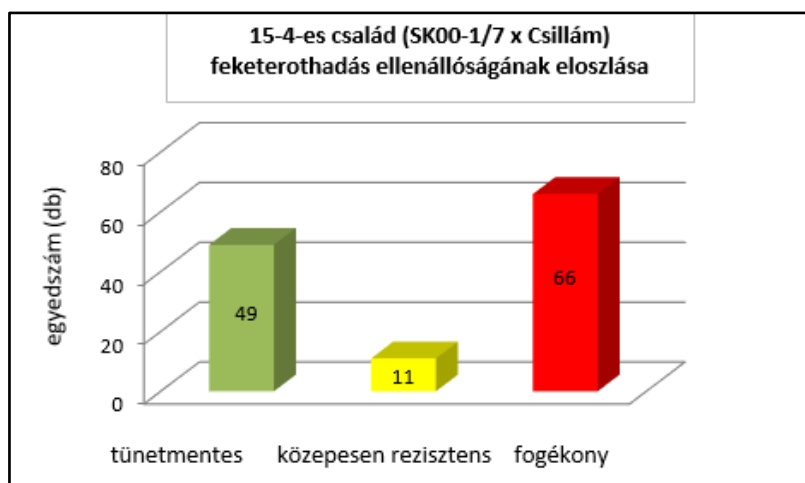
11-19-es hibridcsalád magoncai gyökeresített teszt dugványait egymást követő két évben (2015, 2016) fertőztük mesterséges körülmények között feketerothadás gombával. Genotípusonként szintén három ismétlést végeztünk évente, melynek átlagolt eredményeit a 14. táblázat mutatja. A 2015-ben lefertőzött 45 db növényből 20 magas fokú (7-9) ellenállóságot mutatott, míg 4 db jutott a közepes ellenállóságú csoportba (4-5). A többi egyed fogékonynak bizonyult. A tesztelések megerősítésére 2016-ban végzett mesterséges fertőzések során mindössze 7 magoncnál sikerült megerősíteni a magas szintű feketerothadás rezisztenciát, a többi egyeden erős fertőzöttséget tapasztaltunk. Ezen 6 magoncot oltottuk le következő év tavaszán a feketerothadás tesztelő kertbe, ahol természetes körülmények között néztük meg ellenállóságukat.

14. táblázat A 11-19-es család mesterséges feketerothadás fertőzésének eredményei, 2015 és 2016 között, Pécs, klímaszoba.

Egyed	2015	2016	Egyed	2015	2016
11-19-1	3	3	11-19-26	1	-
11-19-2	4	3	11-19-27	3	3
11-19-3	3,5	3	11-19-28	9	-
11-19-4	2	3	11-19-29	3	3
11-19-5	9	7	11-19-30	9	3
11-19-6	3	-	11-19-31	9	3
11-19-7	9	3,3	11-19-32	8	9
11-19-8	4	1	11-19-33	3	-
11-19-9	-	3	11-19-34	-	1
11-19-10	9	7	11-19-35	1	-
11-19-11	7	9	11-19-36	1	3
11-19-12	1	-	11-19-37	4	3
11-19-13	-	1	11-19-38	1	-
11-19-14	1-3	-	11-19-39	3	3
11-19-15	1	-	11-19-40	3	3
11-19-16	3	-	11-19-41	9	3
11-19-17	9	3	11-19-42	9	-
11-19-18	3	3	11-19-43	8	9
11-19-19	9	3	11-19-44	9	3
11-19-20	9	9	11-19-45	9	3
11-19-21	1	-	11-19-46	1	-
11-19-22	5	3	11-19-47	1	-
11-19-23	9	9	11-19-48	-	1
11-19-24	9	3	11-19-49	9	-
11-19-25	9	3	11-19-50	9	3,3

(Feketerothadás levélrezisztencia bonitálási skála értékei: 9: tünetmentes rezisztencia; 8-7: magas fokú rezisztencia; 6-5: közepes rezisztencia; 4-3: alacsony rezisztencia; 2-1: nagyon alacsony rezisztencia; -: nem tesztelt)

A 15-4-es hibridcsalád ('SK 00-1/7' x 'Csillám') Pécsen 2015-ben készített magonc család tesztelésekor a megfertőzött 126 egyed bonitálásakor a magoncokat három kategóriába soroltuk (27. ábra), mivel nem találtunk köztes értéket (3, 7-es kategória) adó egyedeket. A magoncok közel fele (60 db) mutatott ellenállóságot feketerothadással szemben, ezen belül is 49 egyed bizonyult teljesen tünetmentesnek. A közepesen rezisztensnek ítélt 11 egyeden, egy-egy levélen elszórtan találtunk apró piknidiumos foltot, a hajtások kis részén. A fogékonyak ítélt 66 magoncon erős tünetek léptek fel, a zsenge leveleken nagyméretű piknidiumos foltok fejlődtek ki. Az eredményeink alapján elvégzett (χ^2) khi négyzet teszt értéke 0,28, ami 0,05 szignifikancia szinten igazolja, hogy az ellenállósággal rendelkező és a fogékony magoncok aránya 1:1. A statisztikánk értéke nem haladja meg a χ^2 táblázat alapján a 0.95 szinthez tartozó 3,84 kritikus értéket.



27. ábra A **15-4-es család** ('SK 00-1/7' x 'Csillám') fekete rothadás levélfertőzésének eredményei, Pécs, 2016, klímaszoba.

A Genéből kapott **BR** sorozat három hibridjét (**BR5**, **BR10**, **BR12**) a Baranya Megyei Kormányhivatal Növény- és Talajvédelmi Igazgatóságától 2017 tavaszán kaptuk vissza a karantén vizsgálatok lejártakor. Genotípusonként 3 ismétlésben mesterséges levélfertőzést végeztünk el 2017-ben három független tesztelési alkalommal. A hibridek tesztelésekor kapott levél bonitálási adatokat, a hibridek származásával együtt a 15. táblázat tartalmazza.

15. táblázat BR hibridek fekete rothadás levéllel ellenállóságának értékelése, Pécs, klímaszoba.

Hibrid	Származása	Értékelés ideje 2017-ben		
		06.19.	06.27.	07.17.
BR5	<i>V. cinerea</i> x <i>V. vinifera</i> 'Tannat'	6	4	4
BR10	<i>V. berlandieri</i> x <i>V. vinifera</i> 'Fresno 58-22'	3	3	1
BR12	<i>V. rupestris</i> x <i>V. vinifera</i> 'Cabernet sauvignon'	9	9	9

(Feketerothadás levél rezisztencia bonitálási skála értékei: 9: tünetmentes rezisztencia; 8-7: magas fokú rezisztencia; 6-5: közepes rezisztencia; 4-3: alacsony rezisztencia; 2-1: nagyon alacsony rezisztencia)

A levelek értékelése során a **BR 10-es** hibrid minden ismétlésben erős fekete rothadás tüneteket produkált (1-3 kategória). Ezzel szemben a **BR12** klónjainál egyik alkalommal sem találtunk tünetet. Mérsékelt levél rezisztenciát figyeltünk meg a **BR5-ös** hibrid klónjai esetében. A júniusi értékeléskor nagyobb kiterjedésű foltokat találtunk, azonban elszórtan voltak csak benne megtalálhatóak a kifejlődő piknídiumok.

4.2.2. Mesterséges papírkorongos levélfertőzés eredményei

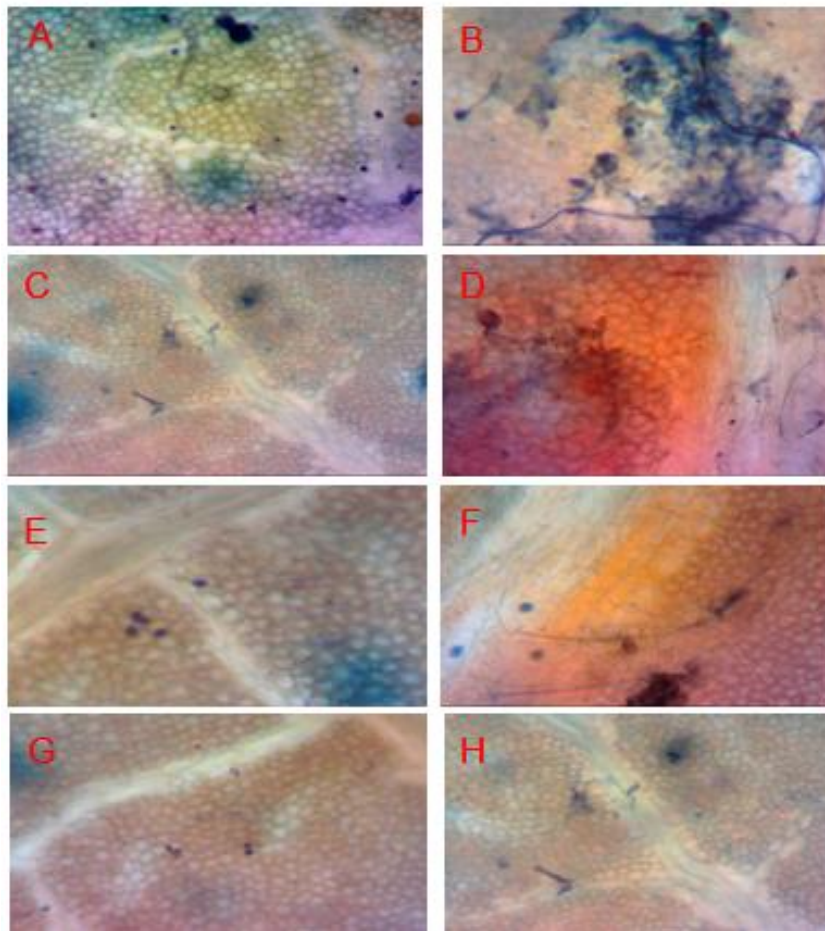
Papírkorongos módszerrel is sikeresen fertőztük meg a feketerothadás kórokozójával az erre a célra kiválasztott gyökeresített dugványokat. A kivágott egységes méretű levélkorongokat a két mintavételi időpontot követően rögzítettük és színtelenítettük, majd a gombaképleteket Trypán-kék tintával megfestettük. A *G. bidwellii* morfológiájának fénymikroszkópos vizsgálata során az összes gombafejlődési stádiumot láthatóvá tettük és fényképesen dokumentáltuk. A 28. ábrán jól kivehető a gomba konídium, majd csírázását követően a kialakuló hifa, majd a tovább fejlődő micélium. A fertőzést követő 16 és 48 órával történő mintavételek festését követő mikroszkópos vizsgálattal értékeltük a tesztelt genotípusokat. Ehhez megfigyeltük a metszeteken látható konídiumok csírázásának és az appresszóriumok fejlődésének arányát a 16 órás mintákban, de lényeges információval a 48 órás metszetekben kifejlődött hifák vagy azok hiánya szolgált a fajták fogékonyságával kapcsolatban. Mindkét időpontban minimum 3 db levélkorong mintát szedtünk meg genotípusonként a 3. és 5. helyzetű levelekről (17. ábra).

A 'Petra' és 'Furmint' fajták esetében a metszetek azonos képet mutattak, mindkét esetben gyors igen fogékony reakciót láttunk a fertőzés hatására. A metszeteken látott *G. bidwellii* konídiumok már a fertőzést követő 16. órától nagyszámban (80-90%) kicsíráztak, appresszórium kialakulását is megfigyeltük. A 'Petra' és 'Furmint' 48 órás mintákban már gyorsan fejlődő hifaszövedéket is találtunk, melynek mérete 50-60 µm nagyságú volt. A levélkorongok felületének 50%-ában a terjedő megfestett gombát láttuk.

A leveleiken látható makroszkópikus tünetek alapján mérsékelten ellenálló 'SV 12375' ('Villard blanc') mintákban már az első időpontban nagy százalékban kicsírázott spórákat találtunk, ugyanakkor, ezekből nem láttunk kifejlődő appresszóriumot. A két napos mintákban már találtunk appresszóriumot mintegy fele-fele arányban a spórákhoz képest. Ezek mellett megfigyeltük a hifaháló kezdeti fejlődését. Ehhez a reakcióhoz hasonló eredményt adott a 'Merzling' és a 'S 7053' ('Chancellor') fajták levélkorongos fertőzése. Mindkét esetben a 16 órás mintákban megtaláltuk a kijuttatott spórákat, melyek 25-50%-ban csíráztak ki. Ezzel szemben a 48 órás mintákban már 90% körüli csírázást láttunk, valamint vékony szálú gombafonalak megjelenését a kialakult appresszóriumokból. Ehhez hasonló lefutását láttuk a fertőzésnek az 'SV 5276' ('Seyval blanc') fajta esetében, ahol a korai mintában látható spórák 20-40%-a csírázott már ki. A 48 órás mintákban jól láthatóak a kicsírázást követően kiürült spórák burkai, az appresszóriumok és a nagyon kezdetleges vékony hifaszálak a metszetek 15-20%-ban (28/C, D. ábra).

A kontroll 'Börner' alanyfajta esetében a fertőzést követően egy más típusú lefutási reakciót láttunk (28/E, F. ábra), mint a korábban leírt két fogékony fajta esetében. A 16 órás mintákban megtaláltuk a konídiumokat, de csírázásuk csak kismértékű volt. A 48 órás mintákban szintén megtaláltuk a

spórákat, amik már nagyobb mértékben kicsíráztak, ugyanakkor növekvő gombafonalat a vizsgált 6 levélkorong átnézése során 5-10%-ban találtunk. A 'Csillám' fajta metszeteinél nem találtunk növekedésben lévő gombaképleteket. Mind a két időpontban vett levélkorongokban megtaláltuk a kijuttatott konídiumokat, melyek 16 órával később csak 20-40%-ban csíráztak ki, míg a 48 órákban magasabb 70-80%-os arányban keltek ki, de további fejlődését a gombának nem láttuk (28/G, H. ábra). A mikroszkópos vizsgálatok során a metszetek ugyanazt a képet mutatták fajtánként mindkét (3. és 5.) levélszintről származó minták esetében. A gomba spórák koncentrátságát figyeltük meg a levél erek mentén, valamint itt gyorsabban növekedtek a gombaképletek is.



28. ábra *G. bidwellii* fejlődése a 'Furmint' fajta levél szövetében 16 (A) és 48 (B) órával a fertőzést követően. A képeken a gomba appresszóriumok és a belőle fejlődő hifaháló látható. Az 'SV 5276' fajta levél mintái fertőzést követő 16 (C) és 48 órában (D). A 'Börner' fajta levél mintái 16 (E) és 48 (F) órával a fertőzést követően. A 'Csillám' fajta levél szövetének mintái a fertőzést követő 16 (G) és 48 (H) órával a fertőzést követően.

4.2.3. Mesterséges bogyó- és fürtfertőzések eredményei

4.2.3.1. Mesterséges bogyó- és fürtfertőzések eredményei klímaszobában

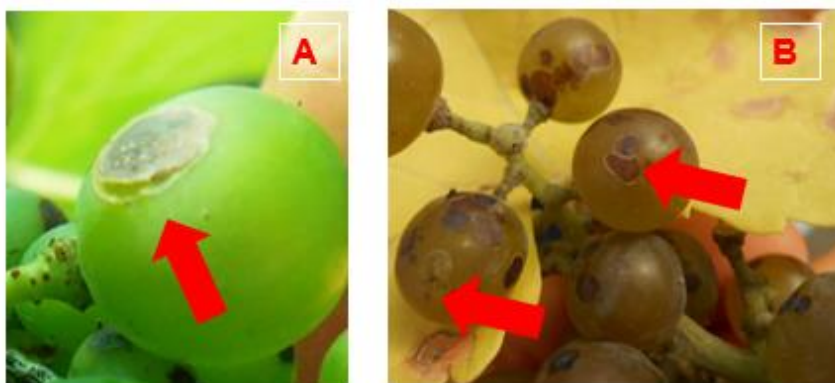
2015-ben 23 génbanki fajta fürtfertőzését végeztük el, melyek lombrezisztenciáját a korábbi években már értékeltük (7-11. táblázat), ezekből 14 genotípus rendelkezett valamilyen szintű levél rezisztenciával (5-9), míg a többi kontrollként szolgált a levél és fürt rezisztencia korrelációjának felméréséhez. A fűrtök fertőzéskor a BBCH75-ös fenológiai állapotban voltak, a zöldborsó nagyságú bogyókat kezeltük a *G. bidwellii* szuszpenzióval. Az első tünetek két hét inkubáció után jelentkeztek a fogékony fajtákon barnuló, besüppedő foltok formájában (lásd még a 4. ábra). Az értékelés a 21. napon már elvégezhető volt, de ezt követően a teljes érésig megfigyeltük és értékeltük a fűrtöket. 2015-ben 16 fajta mutatott közepes vagy nagyfokú fogékonyságot a feketerothadás-fertőzés teszteléskor. Ezeknél a fajtáknál a rothadt bogyók aránya meghaladta az 50%-ot. A '5-11-2'-es (*V. amurensis*. x *V. vinifera* F2) és az 'SV 5276'-ös termő hibrid esetében új tünettípust találtunk az első évben. A feketerothadás tünetek a zöld bogyón felületi foltok formájában jelentkeztek, melyekben fekete piknidiumok fejlődtek. Azonban ezek a foltok nem hatoltak le a bogyó mélyebb szöveteibe, továbbá nem növekedtek a bogyóval együtt, ezért előfordult, hogy az érés során maguktól leváltak, és a bogyók épségben beértek, ezért soroltuk a rezisztens csoportba mindkettőt. Teljes érésig a fertőzött 23 fajtából ötnél semmilyen feketerothadás tünetet nem észleltünk, ezért a tünetmentesen rezisztens csoportba soroltuk őket (16. táblázat). A következő évben, 2016-ban, sikerült mind a 23 fajtának a fűrtjét újra tesztelni közel zöldborsóméretű bogyós állapotban. 40-80%-os arányú bogyórothadást, és bogyómúmiák kialakulását figyeltük meg ugyanannál a 16 fajtánál. Ebben az évben csak 2 fajta, a 'Csillám' és az 'SV 5276' bogyóin nem fedeztük fel a fertőzés nyomait. Rezisztensnek ezúttal 5 fajta bizonyult. A két év klímaszobában elvégzett feketerothadás bogyófertőzésének eredményeit a 16. táblázat foglalja össze. A két év során fürtfertőzéseinek alapján kiemelkedett a 'Csillám', tünetmentes rezisztenciájával. Továbbá magas fokú fürtrezisztenciát figyeltünk meg az 'SV 5276', 'Merzling', '5-10-6', '5-11-2', '5-11-6' és 'Felicia' fajtáknál és hibrideknél.

2017-ben folytattuk a levélvizsgálatok alapján rezisztenciával rendelkező hibridek mesterséges fürtfertőzéseit, de a zöldborsó méretű bogyók mellett több fenológiai stádiumban (BBCH68, BBCH71, BBCH73 és BBCH77) lévő fűrtöt is teszteltünk.

16. táblázat Feketerothadás fürtfertőzés eredményei 2015-2016, Pécs, klímaszoba.

Fajta/ Hibrid	2015 Klímaszoba	2016 Klímaszoba
S 7053	Nagyon fogékony	Közepesen fogékony- Nagyon fogékony
SV 5276	Rezisztens	Tünetmentesen rezisztens
SV 12375	Nagyon fogékony	Közepesen fogékony
SV 18315	Nagyon fogékony	Nagyon fogékony
Bianca	Nagyon fogékony	Nagyon fogékony
Teréz	Nagyon fogékony	Nagyon fogékony
V25/20	Nagyon fogékony	Nagyon fogékony
Moldova	Nagyon fogékony	Nagyon fogékony
MM20	Nagyon fogékony	Nagyon fogékony
MM27	Nagyon fogékony	Nagyon fogékony
Csillám	Tünetmentesen rezisztens	Tünetmentesen rezisztens
Felicia	Tünetmentesen rezisztens	Rezisztens
Merzling	Tünetmentesen rezisztens	Rezisztens
GM318-57	Közepesen fogékony- Nagyon fogékony	Nagyon fogékony
GM78-10-8	Nagyon fogékony	Nagyon fogékony
Malverina	Közepesen fogékony- Nagyon fogékony	Nagyon fogékony
5-10-6	Tünetmentesen rezisztens	Rezisztens
5-11-2	Rezisztens	Rezisztens
5-11-6	Tünetmentesen rezisztens	Rezisztens
Panonija	Nagyon fogékony	Nagyon fogékony
20/3	Nagyon fogékony	Nagyon fogékony
Kismis vatkana	Nagyon fogékony	Nagyon fogékony
Furmint	Nagyon fogékony	Nagyon fogékony

A 17. táblázat tartalmazza az eltérő fenológiai stádiumban fertőzött fürtök rezisztencia besorolását. A kísérlet során azt tapasztaltuk, hogy a 'Csillám' fajta mind a négy bogyófejlettségi stádiumban megtartotta magas fokú rezisztenciáját, sőt ezek közül háromnál teljesen tünetmentesek maradtak a bogyók, míg egy esetben kevés, kisméretű az érés során leváló foltot találtunk. Az 'SV 5276' mind a négy fürtfertőzési időpontban magas fokú ellenállóságot mutatott. Azaz a bogyók felső rétegén kialakultak a feketerothadás felszíni foltjai, de éréskor minden esetben leváltak vagy súlyosabb esetben varrasodtak (29. ábra), de a bogyók rohadása minden esetben elmaradt. A *V. amurensis* x *V. vinifera* származású hibrideknél volt egy fejlődési stádiuma (BBCH71) a bogyóknak, amikor a fertőzést követően 5-15%-os rothadás következett be a fürtöknél. A többi fürtfertőzési alkalomnál a korábban megfigyelt felszíni lehámló foltokat láttuk, hasonlóan a 'Merzling' fajtánál tapasztaltakkal. A korai stádiumban (sörét nagyságú bogyók) megfertőzött 'Felicia', 'S 7053' és 'SV 12375' fajtáknál nagymértékű (40-70%) bogyórothadás lépett fel.



29. ábra Az 'SV 5276'-os fajta feketerothadással fertőzött bogyói az érés kezdetén (A) és a teljes érettségben (B), 2015, Pécs, klímaszoba.

A levél és fürt klímaszobában történő mesterséges feketerothadás fertőzési kísérletek eredményeinek statisztikai vizsgálatakor a korrelációs együttható szignifikáns, mivel $p < 0,05$, értéke: 0,552, ami közepes erősségű pozitív irányú kapcsolatot jelez a két változó között.

17. táblázat Levélrezisztencia alapján kiemelt hibridek különböző fenológiai stádiumban fertőzött fürtjeinek feketerothadás ellenállósága, Pécs, klímaszoba, 2017.

Fajta / Hibrid	Fürtök fenológiai fázisa a fertőzéskor (Lorenz et al. 1995) alapján				
	BBCH68	BBCH71	BBCH73	BBCH75	BBCH77
Csillám	TR	R	TR	TR	TR
5-10-6	-	MF	MF	R	TR
5-11-6	-	MF	R	TR	-
5-11-2	-	MF	MF	R	R
S 7053	NF	-	NF	-	MF
SV 5276	-	-	R	R	TR
GM318-57	-	-	NF	NF	TR
Malverina	NF	NF	-	NF	-
Bianca	-	-	NF	NF	MF
SV 18315	NF	-	-	NF	-
Furmint	NF	-	NF	NF	-
SV 12375	-	-	MF	NF	-
Felicia	-	-	MF	R	-
Merzling	-	-	R- MF	R	-
G7	-	-	-	NF	-
G48	-	-	NF	NF	-
G60	-	-	-	MF	R
V25/20	-	NF	-	MF	-

(A fürtök négyfokozatú bonitálási skálája: TR: Tünetmentesen rezisztens; R: Rezisztens; MF: Mérsékelten fogékony; NF: Nagyon fogékony; -: nem tesztelt)

4.2.3.2. Mesterséges bogyó- és fürtfertőzések eredményei szabadföldön

A 'Csillám' szőlőfajtából 25 tőke van a PTE SZBKI 45. számú táblájában. A természetes feketerothadás nyomás ebben az ültetvényben alacsony volt. Az előző két évben (2015-2016) nem találtuk meg a kórokozót. Szabadföldi mesterséges fürtfertőzéshez 2017 nyarán az időjárási feltételek optimálisak voltak mesterséges szabadföldi fertőzés elvégzéséhez. A havi átlaghőmérsékletek 24-25,6 °C között alakultak, és a havi csapadékmennyiség 60-78 mm között változott a PTE SZBKI meteorológiai állomásának mérései szerint.

Véletlenszerű elrendezésben fertőztük a fürtöket 2017 nyarán két alkalommal, alkalmanként eltérő fenológiai fázisú fürtök tesztelésével. Az összefoglaló 18. táblázatban szerepel a megjelölt fürtök száma mellett, azok fertőzéskori fenológiai állapota, valamint a bonitálás eredménye. A 'Csillám' fajta esetében a BBCH69 és BBCH75, valamint az ezt követő fenológiai állapotban történő fertőzés ellenére következetesen tünetmentesek maradtak a fürtök az egész vegetációs időszak során. A BBCH71 és 73-as stádiumban történt mesterséges fertőzés hatására az érési folyamat során megfigyeltük a bogyókon kialakuló felszíni, piknídiumokat elszórtan tartalmazó felületi feketerothadás foltokat. A bogyók felületének kis százalékát fedték ezek a jellemző tünetek és fürtönként eltérő százaléku bogyón tapasztaltuk a jelenséget, amit a táblázatban külön feltüntettünk a megjegyzés oszlopban. A felszíni foltok augusztus végére a bogyók növekedésének ütemében felszakadoztak és leváltak. A teljes éréskor történő bonitálás során a kijelölt fürtökön a fertőzés nyomát csak kis százalékban találtuk meg. A megfigyelt felületi feketerothadás foltok helyenként apró hegeket hagyva, vagy nyom nélkül leváltak, de a bogyók károsodás nélkül beértek.

18. táblázat 'Csillám' fajta mesterségesen fertőzött fürtjeinek rezisztencia értékelése szabadföldön, a fertőzés időpontjával és a fürtök fenológiai stádiumával együtt, Pécs, 2017.

fürtök száma	fertőzési stádium	fertőzési időpont	rezisztencia értékelése	megjegyzés
1	BBCH73	június 7	Rezisztens	2-3 bogyón apró felszíni folt
2	BBCH75	június 7	Tünetmentesen rezisztens	
3	BBCH69	június 7	Tünetmentesen rezisztens	
4	BBCH73	június 7	Rezisztens	fürt 10%-án 2-3 felszíni folt/bogyó
5	BBCH75	június 7	Tünetmentesen rezisztens	
6	BBCH71	június 7	Rezisztens	fürt 20%-án 2-3 felszíni folt/ bogyó
7	BBCH75	június 7	Tünetmentesen rezisztens	
8	BBCH75	június 21	Tünetmentesen rezisztens	
9	BBCH77	június 21	Tünetmentesen rezisztens	
10	BBCH77	június 21	Tünetmentesen rezisztens	
11	BBCH71	június 21	Rezisztens	2 felszíni folt/bogyó, a fürt 10%-án
12	BBCH69	június 21	Tünetmentesen rezisztens	

A kontrollként szolgáló 'Viktória gyöngye' és 4/2 -es hibrid minden fertőzési stádiumban nagyon fogékony volt a kórokozóra, a fürtönként elrothadt bogyók aránya minden esetben 50% feletti volt.

4.2.4. Szabadföldi természetes feketerothadás fertőzés eredményei

A Szentmiklós-hegyi Kísérleti Telep A4-es permetezetlen táblájában 2017 nyarán feketerothadás tesztelő kert került kialakításra. Ebben az ültetvényben 23 fajta 5 tőkés parcelláját alakítottuk ki (20. ábra). A feketerothadás természetes nyomás nagyon magas volt 2017-ben is. A meghagyott kontroll tőkék levelein nagyméretű összefolyó, piknidiummal sűrűn borított tünetek jelentek meg, és a fürtök bogyói 50-100%-ban rothadtak el. 2017 nyarán több alkalommal átvizsgáltuk az ültetvényt, a bonitálásokat július 28 és szeptember 10 között végeztük el. Az ültetvény feketerothadás felmérését 2018 nyarán többször megismételtük. A szabadföldi feketerothadás felmérésének eredményeit a 19. táblázat tartalmazza.

19. táblázat Feketerothadás tesztkertben 2017-ben leoltott fajták és hibridek levél- és fürt fertőzöttség bonitálása 2017 és 2018 között, Pécs, A4 tábla, szabadföld.

Fajta/ Hibrid	tőkék száma	2017. 07.28- 09.10.		2018 06.01-08.20.		Fajta/ Hibrid	tőkék száma	2017. 07.28- 09.10.		2018 06.01-08.20.	
		levél	fürt	levél	fürt			levél	fürt	levél	fürt
S 4995	1. tőke	5	-	5	R	S 4643	1. tőke	7	TR	9	TR
	2. tőke	3	-	5	-		2. tőke	9	TR	9	TR
	3. tőke	3	MF	3	MF		3. tőke	9	-	8	-
	4. tőke	3	-	5	-		4. tőke	9	-	9	TR
	5. tőke	3	MF	5	R		5. tőke	9	TR	9	TR
S 5656	1. tőke	7	TR	9	TR	CSFT 61	1. tőke	5	TR	7	TR
	2. tőke	9	-	9	TR		2. tőke	7	-	7	TR
	3. tőke	7	-	7	-		3. tőke	7	-	7	-
	4. tőke	5	-	6	R		4. tőke	5	-	7	TR
	5. tőke	9	-	8	-		5. tőke	-	-	-	-
Vignoles	1. tőke	3	-	5	R	Csillám	1. tőke	8	TR	9	TR
	2. tőke	1	NF	3	MF		2. tőke	9	TR	9	TR
	3. tőke	3	-	3	-		3. tőke	9	TR	9	TR
	4. tőke	3	-	5	-		4. tőke	8	-	9	-
	5. tőke	1	-	3	MF		5. tőke	9	TR	9	TR

19. táblázat folytatása Feketerothadás tesztterekben 2017-ben leoltott fajták és hibridek levél- és fűrtfertőzöttség bonitálása 2017- 2018 között, Pécs, A4 tábla, szabadföld.

Fajta/ Hibrid	tőkék száma	2017. 07.28- 09.10.		2018 06.01- 08.20.		Fajta/ Hibrid	tőkék száma	2017. 07.28- 09.10.		2018 06.01- 08.20.	
		levél	fűrt	levél	fűrt			levél	fűrt	levél	fűrt
CSFT 92	1. tőke	7	-	7	-	Merzling	1. tőke	9	-	9	R
	2. tőke	8	-	8	TR		2. tőke	8	-	9	R
	3. tőke	8	-	9	TR		3. tőke	9	-	9	TR
	4. tőke	9	-	9	-		4. tőke	8	-	8	-
	5. tőke	9	-	9	-	CSFT2423	1. tőke	4	NF	3	NF
S 4986	1. tőke	9	-	9	TR		2. tőke	3	NF	1	NF
	2. tőke	7	-	8	TR		3. tőke	1	-	3	MF
	3. tőke	9	-	9	-		4. tőke	3	MF	1	NF
	4. tőke	-	-	-	-		1. tőke	1	NF	1	NF
	5. tőke	8	-	8	-	fogékony kontroll 01-1-808	2. tőke	1	NF	1	NF
Vidal blanc	1. tőke	9	-	8	TR		3. tőke	1	NF	1	NF
	2. tőke	-	-	-	-		4. tőke	1	NF	1	NF
	3. tőke	9	-	7	R		5. tőke	1	NF	1	NF
	4. tőke	9	-	9	TR	11-19-32	1. tőke	1	NF	5	MF
	5. tőke	9	-	9	-		2. tőke	3	-	3	-
Odjaleshi	1. tőke	5	MF	5	MF		3. tőke	3	MF	3	MF
	2. tőke	5	-	5	NF		4. tőke	1	NF	3	MF
Gorula	1. tőke	3	MF	3	NF	11-19-20	5. tőke	1	-	3	-
	2. tőke	3	NF	3	NF		1. tőke	3	NF	5	MF
Muradouli	1. tőke	4-5	MF	5	MF		2. tőke	3	MF	5	MF
	1. tőke	5	NF	5	NF		3. tőke	3	MF	3	MF
	2. tőke	8	-	5	-	11-19-10	4. tőke	3	-	5	-
Malverina	3. tőke	5	MF	3	MF		5. tőke	5	MF	5	-
	4. tőke	1	MF	3	NF		1. tőke	3	-	5	R
	5. tőke	3	-	3	-		2. tőke	5	-	5	MF
Bianca	1. tőke	3	-	5	NF	11-19-00	3. tőke	3	-	5	MF
	2. tőke	5	-	5	NF		4. tőke	3	-	5	-
	3. tőke	3	-	3	MF		5. tőke	3	-	5	MF
	4. tőke	3	-	3	-		1. tőke	1	-	1	MF
	5. tőke	1	-	3	R	Felicia	2. tőke	1	-	1	-
Felicia	1. tőke	7	TR	-	TR		3. tőke	3	-	3	MF
	2. tőke	5	TR	-	R		4. tőke	1	-	1	-
	3. tőke	7	-	-	-		5. tőke	1	-	1	NF
	4. tőke	9	TR	-	TR	GM318-57	1. tőke	9	MF	7	MF
	5. tőke	9	-	-	-		2. tőke	8	MF	5	MF
GM318-57	1. tőke	9	MF	7	MF		3. tőke	9	-	7	-
	2. tőke	8	MF	5	MF		4. tőke	9	-	7	MF
	3. tőke	9	-	7	-		5. tőke	8	MF	5	NF
	4. tőke	9	-	7	MF						
	5. tőke	8	MF	5	NF						

(Feketerothadás levélrezisztencia bonitálási skála értékei: 9: tünetmentes rezisztencia; 8-7: magas fokú rezisztencia; 6-5: közepes rezisztencia; 4-3: alacsony rezisztencia; 2-1: nagyon alacsony rezisztencia; -: nem tesztelt. A fűrtök négyfokozatú bonitálási skálája: TR: Tünetmentesen rezisztens; R: Rezisztens; MF: Mérsékelten fogékony; NF: Nagyon fogékony)

A két évben megfigyelt egyedek feketerothadás ellenállósága megegyezett. A zsenge, intenzíven növekvő leveleken súlyos feketerothadás tünetek fejlődtek ki a fogékony típusokon, mint az 'S 4995', 'Vignoles', 'Gorula', 'Malverina', 'Bianca' és a 'CSFT2423' fajták, valamint a **11-19**-es család hibridjei és a fogékony kontroll 01-1-808-as hibrid. Nagyon magas fokú levél ellenállóságot tapasztaltunk az 'S 4643', a 'Csillám', a 'S 4986', a 'CSFT92', a 'Vidal blanc', a 'GM318-57' és a 'Merzling' fajtákon. Mérsékelt megjelenésű és számú levéltünettel rendelkező fajták a 'Felicia', az 'S 5656', a 'CSFT61' és a két Grúziából származó *V. vinifera* ('Muradouli' és 'Odjaleshi') voltak. A fürtök értékelésénél szeptember közepére tünetmentes, ép bogyókkal beérő fajták közé tartozott az 'S 5656', 'S 4643', 'Csillám' és a 'Felicia'. 50% feletti bogyórothadást tapasztaltunk a 'Vignoles', 'Gorula', 'Malverina', 'CSFT2423', **11-19-10**, **11-19-20**, **11-19-32** és **11-19-00** és a 01-1-808-as hibrid egyes tőkéinek fürtjeinél.

4.3. Új tudományos eredmények

1. *G. bidwellii* *in vitro* tenyésztéséhez kidolgoztunk egy hatékonyabb táptalaj kombinációt. A 10% szőlőmustot tartalmazó zabliszt táptalajon a gombatelepek növekedése szignifikánsan nagyobb volt az eddig alkalmazott táptalajokhoz képest, továbbá fokozta a gombatelepek sporulációját.
2. Elsőként írtuk le bogyók felszínén megjelenő, majd az érés során leváló feketerothadás foltok megjelenését nem *Muscadinia rotundifolia* szőlőfajtákon. Ennek az új típusú tünetnek nagy jelentősége van a rezisztencianemesítésben. A bogyók belső szövetei nem roncsolódnak, a fürtök épek maradnak, ami egy magas fokú rezisztencia működésének tulajdonítható.
3. A szőlő fajták feketerothadás lomb- és fürtrezisztenciája között nincs szoros korreláció, ennek következtében a rezisztencia szintjének meghatározásához nem elegendő csak a levelek ellenállóságának értékelése.
4. Új, rezisztencianemesítésben alkalmazható forrásként kiemeltük a 'Csillám' szőlőfajtát, melynek mind a lomb-, mind a fürtrezisztenciája kimagasló a feketerothadással szemben. A 'Csillám' fajta képes átörökíteni a magas fokú feketerothadás rezisztenciáját, amit a **15-4**-es magonccsalád utódai közötti nagyszámú feketerothadás rezisztens egyed igazol.
5. A **11-20**-as hibridcsalád magoncai között a rezisztencia donorként szolgáló szülőhöz hasonlóan nagyszámban találtunk tünetmentes rezisztenciájú egyedeket, amiből arra következtetünk, hogy ez a keresztezési kombináció is alkalmas lehet nemesítési alapanyag kiválasztására, és a rezisztencia gén térképezésére.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

5.1. A *G. bidwellii*, a szőlő feketerothadásos megbetegedését okozó gomba *in vitro* fenntartásának és sporulációs kísérleteinek tapasztalatai

A levelekről visszaizolált kórokozó táptalajon kifejlődő telepeinek morfológia alapján történő fenotípusos és mikroszkópos azonosítása mellett, a riboszomális DNS minták szekvencia illesztés eredménye bizonyította, hogy az általunk *in vitro* nevelt gomba tenyészetek valóban egyeznek a feketerothadást okozó *G. bidwellii*-vel. A patogenitási tesztek során minden fertőzési alkalommal következetesen az *M. rotundifolia* magoncok tünetmentesek maradtak, míg a 'Furmint' dugványon erős feketerothadás tünetek jelentkeztek. Ez alátámasztotta, hogy az általunk mesterséges fertőzésekhez használt gomba izolátum *G. bidwellii* kórokozó *euvitis* rassza, mivel az *euvitis* nem okozott tüneteket *M. rotundifolia* szőlőkön (JABCO et al. 1985).

A feketerothadás mesterséges fertőzésekhez a kórokozó gomba felszaporítására és konídiospóráinak kinyerésére van szükség, hogy kontrollált körülmények között tesztelhesük a vizsgálandó növényeket. A munka kezdetétől tudtuk, hogy ez nehezebben kivitelezhető, mint a lisztharmat gomba vagy peronoszpóra mesterséges fertőzések esetében, ahol a begyűjtött tünetes levelekkel közvetlenül gravitációs technikával vagy a spóra szuszpenzióval a lemosást követő egy-két órán belül elvégezhető a fertőzés (HOFFMANN 2008). A *G. bidwellii* Petri-csészés felszaporításához nélkülözhetetlen a megfelelő táptalaj kiválasztása, amin a pécsi körülmények között legmegbízhatóbban fejlődik a kórokozó.

A németek által (ULLRICH et al. 2009) javasolt fényösszetétel (állandó fekete és fehér fény használata) fokozta a sporulációt a telepeken. A kontrollként, megvilágítás nélkül, tartott tenyészeteken nem vagy alig figyeltünk meg spóra kiáramlást. Ez az eredmény egybevág a többi kutatócsoport megállapításaival (LOSKILL et al. 2010). Abban az esetben, mikor a tenyészetek számára nem tudtuk fenntartani a 25 °C-ot, akkor a telepek növekedése lelassult és a fehér gombaszövedék fejlődött fokozottan. A fedőszőrök egyes esetben a kiemelkedő termőképleteket is teljesen lefedték. Az amerikai NORTHOVER téziseit (2008) követve kipróbáltuk a 25%-os tejsavval kiegészített táptalajokat a pécsi izolátumok neveléséhez. Három kiválasztott alaptáptalajjal kombináltuk, de jelentős eltérést a hatékony felhasználás szempontjából nem tapasztaltunk. A telepek növekedését fokozta ugyan ez az összetevő, de a spórák kiáramlása vontatott volt, vagy teljesen elmaradt. A micélium fokozott növekedése ellenére a kívánt hatást, tehát a sporulációs képesség fokozását, nem sikerült megvalósítani ezeken a tápközegeken.

Az *in vitro* tenyésztés optimalizálásának további lépéseként az alaptáptalajokat elsőként egészítettük ki éretlen szőlőbogyókból préselt musttal. A tenyészetek micélium növekedését kis

mértékben sikerült növelnünk a táptalajok 5 V/V% szőlőmusttal történő kiegészítésével, azonban a piknídiumok fejlődését és sporulációját ez nem befolyásolta következetesen.

A töményebb 10 V/V%-ban szőlőmustot tartalmazó táptalajokon szignifikánsan nagyobb átmérőjű telepek növekedtek a többi táptalajhoz képest. A sporuláció azonban nem minden esetben nőtt. A MEAII és PDAII táptalajokon a fokozott növekedés ellenére a telepek kevesebb termőtestet fejlesztettek. Ezen a két táptalajon később kezdődő és gyengébb spóratermelődést figyeltünk meg, ezért ezek a tápközegek sem voltak alkalmasak számunkra az *in vitro* fenntartáshoz. Ez igazolta azt a tényt, miszerint a szénforrások fokozzák a növekedést, de a sporulációt a C:N arány befolyásolja (JACKSON 1997; GAO és LIU 2010). Méréseink alapján a *G. bidwellii* izolátumok *in vitro* neveléséhez a ZABII táptalaj volt a legalkalmasabb, azokon a fokozott micéliumnövekedés mellett, már a 7. naptól megfigyelhető volt intenzív konídium kipréselődés a piknídiumokból. A telepek sötét fekete színűek és kompakt szerkezetűek voltak. A 14. napra már a tenyészetek egész felszínén találtunk sporuláló piknídiumokat, melyek a 21 napig aktívan sporuláltak. A statisztikai elemzés is igazolta a *G. bidwellii* legintenzívebb fejlődését a 10% musttal kiegészített táptalajon. Ez a táptalaj típus kiválóan bevált a pécsi körülmények közötti mesterséges fertőzéshez szükséges inokulum előállításához, ezért a továbbiakban nem tervezzük új táptalajok vizsgálatát.

5.2. Feketerothadás rezisztenciaforrás keresés értékelése

Az első interspecifikus hibridek főként *V. riparia*, *V. rupestris*, *V. lincecumii* vagy *V. aestivalis* fajok *V. vinifera* fajtákkal történő visszakeresztezéséből származnak (9.6. melléklet), melyek között korábban találtak több feketetrohadással szemben ellenállóságot mutató hibridet (DEMAREE et al. 1937). Klímaszobában, mesterséges fertőzési kísérletekkel REX (2012) igazolta a magas fokú feketetrohadás rezisztencia (8-9 kategória) jelenlétét több *Vitis* fajnál, pl. a *V. riparia*, *V. labrusca* vagy a *V. rupestris* fajoknál. A *V. aestivalis* feketetrohadás ellenállóságát csak közepesnek találta (4-7 kategória).

A publikált levélbonítási eredmények azonban nem minden fajta/hibrid esetében egyeznek meg, amint ezt a későbbiekben részletesen bemutatok egyes genotípusok esetében. Tudomásom szerint még nem született olyan átfogó kutatást tartalmazó mű, ami tartalmazná ezen hibridek levél- és fűrtesztelemzéseinek eredményeit.

Ellentmondásos adatokat találtunk a 'Villard blanc' ('SV 12375') feketetrohadás ellenállóságát illetően. Míg az első irodalmi leírások szerint nagyon fogékony (HARTMAN és HERSHMAN 1988), és más eredmények szerint mérsékelten ellenálló (JABCO et al. 1985), addig egy német kutató vizsgálata szerint rezisztens (REX 2012) a feketetrohadással szemben. A mi vizsgálatunk során mind a 4 mesterséges fertőzést követően kialakultak a tipikus feketetrohadás tünetek, bár

eltérő súlyosságú tüneteket regisztráltunk, ezek alapján a mérsékelt ellenálló csoportba soroltuk (4-5 kategória) a 'Villard blanc' fajtát.

További ellentmondásokat tapasztaltunk a saját teszteléseink eredményei és a korábbi publikációkban említett néhány fajta feketetrohadás ellenállóságát illetően. Az általunk tesztelt 'S 7053' fajta egymást követő 2 évben kiemelkedő lombellenállóságot mutatott. Tüneteket egyetlen levélen sem találtunk. Eredményünket megerősíti egy korábbi mesterséges fertőzéssel végzett kísérlet, ami ezt a fajtát magas fokon ellenállónak találta (JABCO et al. 1985). Más vizsgálatok azonban ettől eltérően a 'Chancellor' fajtát a közepesen fogékony csoportba (RIES 1999; HARTMAN és HERSHMAN 1988), vagy a mérsékelt fogékony csoportba (ELLIS és NITA 2004) sorolták.

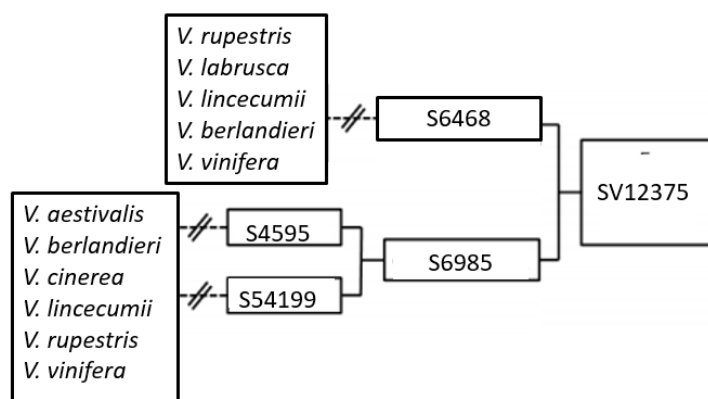
A 'Seyval blanc' ('SV 5276') fajtával kapcsolatban is eltérő eredményeket találhatunk a szakirodalomban. Szabadföldi megfigyelések alapján közepesen fogékony (ELLIS és NITA 2004) vagy teljesen fogékony (HARTMAN és HERSHMAN 1988) ítélték. Mesterséges körülmények között mérsékelt ellenállóságot mutatott JABCO és mtsai. (1985) kísérleteiben, REX (2012) pedig kiemelkedő rezisztenciáról számolt be. Az általunk végzett tesztelések alkalmával a 'Seyval blanc' fajtánál magas fokú levélrezisztenciát tapasztaltunk.

A franko-amerikai hibridek származékai közül 61 hibridet vizsgáltunk (8. táblázat). Származásukat figyelembe véve külön csoportosítottuk a rezisztenciát potenciálisan átörökítő franko-amerikai hibridek származékait (20. táblázat). A táblázat a 'Villard blanc', 'Chancellor', 'S 4643' és 'S 4986' franko-amerikai hibridek szülőként való felhasználásából származó tesztelt genotípusokat tartalmazza.

20. táblázat Feketrohadás rezisztencia szintje a franko-amerikai hibridek utódainál a genetikai forrásuk szerint csoportosítva

Feketrohadás rezisztencia foka levélen	Franko-amerikai hibridek és utódaik			
	SV12375	S7053	S4986	S4643
9: tünetmentes rezisztencia				Csillám
7: magasfokú rezisztencia	Teréz		SV 5276, Merzling	
5: közepes rezisztencia	Villaris, Malverina	GM318-57	Felicia	
3: alacsony rezisztencia	Suzy, Moldova, E338, MM2, Néró, Ecs18, Ecs20, MM31, Ecs26, E346, E411, V25/20, Ecs28, E313, Ecs44, Viktória gyöngye	GM78-10-8		
1: nagyon alacsony rezisztencia	SV 20365, Ecs16, Ecs22, Zalán, Bianca, Ecs38, Ecs46, Ecs48, Isaura, E345, E352, Esther, E350, E344, MM2, MM21, MM44, MM42, MM57	GM322-58 MM32		

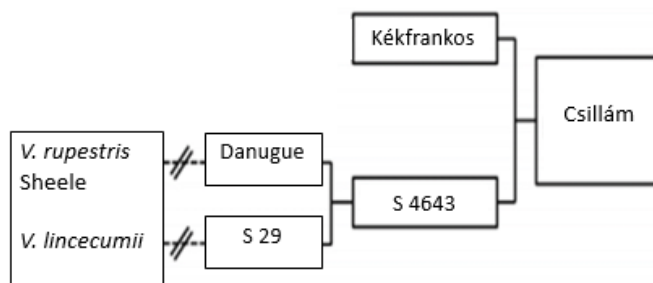
A franko-amerikai hibridek közül a 'Villard blanc' fajta terjedt el a legszélesebb körben a nemesítési programokban (CSEPREGI és ZILAI 1988), a fajta származását mutatja a 30. ábrán közölt családfa, feltüntetve a készítéséhez felhasznált kiinduló számos *Vitis* fajt. Az ősök között szereplő *V. rupestris*, *V. cinerea* és *V. berlandieri* fajok miatt feltételeztük a fajta és származékainak feketerothadás ellenállóságát. A teszt sorozatba a 'Villard blanc'-nak 37 leszármazottja került be feketerothadás ellenállóságuk meghatározására. A 'Villard blanc' utódainak nagyobbik része a közepesen vagy a nagyon fogékony kategóriába került. Kivételt négy fajta esetében tapasztaltunk. A 'Villaris' és 'Malverina' fajták mérsékelt levél ellenállóságot mutattak feketerothadás teszteléskor. A 'Teréz' fajtánál két tesztelés során is tünetmentességet tapasztaltunk, majd a harmadik és negyedik alkalommal zsengébb levelek fertőzésekor kifejlődtek a tünetek.



30. ábra A 'Villard blanc' ('SV 12375') szőlőfajta eredete a forrás *Vitis* fajok bemutatásával.

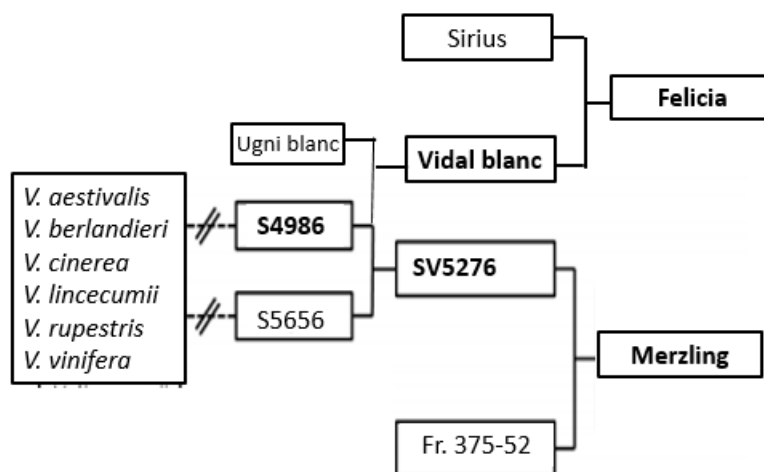
A meglepetést ebben a csoportban a 'Csillám' fajta jelentette, mely többszöri fertőzést követően is teljes lombrezisztenciát mutatott. Ellenállóságát KELLNER és mtsai. (2014) által végzett vizsgálatok is megerősítették. Felvetődött a kérdés, hogy a 'Csillám' tünetmentessége eredhet-e a szülőnek tartott 'Villard blanc'-tól. A Szent István Egyetemen végzett átfogó rokonsági vizsgálatban 9 SSR lókuszt vizsgálata alapján cáfolták a 'Csillám' fajta nemesítője által közölt pedigret, miszerint 'SV 12375' x 'Csaba gyöngye' keresztezéséből származik (TÓTH-LENCSE et al. 2015). Teszteredményeink ösztönözték a 'Csillám' fajta valós pedigréjének meghatározását egy új, közös vizsgálatban. Ennek során 31 SSR markerrel igazolták a 'Csillám' fajta származását a 'Kékfrankos' és 'Seibel 4643' szülőktől (KISS et al. 2017). Így vélhetően a tünetmentes feketerothadás ellenállóság a 'S 4643' hibrid közvetítésével került a 'Csillámba', mely a 'Jaeger 70' (*V. lincecumii* x *V. rupestris*) fajta második visszakeresztezéséből vezethető le (31. ábra). A 'S 4643' feketerothadás rezisztenciájának szabadföldi tesztelésére 2017-18-ban került sor. A

feketerothadás tesztelőkertbe frissen leoltott 'S 4643' tünetmentes ellenállóságát figyeltük meg, miközben a feketerothadás fertőzésnek minden körülmény biztosított volt. Az eredmények alapján érdemes lenne az 'S 4643' hibriden és a rokonsági körébe tartozó vonalakon mesterséges fertőzést elvégezni. Várhatóan vannak ebben a leszármazási körben magas fokú ellenállósággal rendelkező hibridek, amiket szülőként tudnánk használni a feketerothadás elleni rezisztencianemesítésben.



31. ábra A 'Csillám' szőlőfajta valós pedigréje (Kiss et al. 2017 nyomán).

A 'Chancellor' fajtának 4 utódját teszteltük feketerothadás ellenállóságra, amiből 3-at Geisenheimben állítottak elő (BECKER 1977): 'GM318-57', 'GM322-58', 'GM78-10-8' és az 'MM32'. A 'GM318-57' négy tesztelésből három alkalommal kiemelkedő rezisztenciát mutatott, egy alkalommal pedig enyhe, néhány levélen megjelenő kisebb kiterjedésű léziót figyeltünk meg. A 'Seibel 4986'-os számú franko-amerikai hibrid szintén hordozhatja a feketerothadás magas szintű ellenállóságát (19. táblázat), mivel utódai közül az 'SV 5276' kiemelkedett feketerothadás ellenállóságával. Továbbá ebből a vonalból származó 'Merzling' és 'Felicia' német nemesítésű fajták szintén rendelkeznek feketerothadás ellenállósággal (8. táblázat). Ezen fajták eredetét a 32. ábra mutatja be, a rezisztenciát szolgáltató *Vitis* fajokkal együtt. Megfigyeléseink szerint a 'Felicia' és 'Merzling' fajtákon a hivatalosan elfogadott 21 napos értékelési időpontot meghaladóan jelennek meg a tünetek. Egy fertőzés után több alkalommal is elvégeztük a bonitálást, így derült ki, hogy fajtától függően eltérő időben jelennek meg a tünetek. Talán ennek köszönhető, hogy ezeket a fajtákat más vizsgálatokban magas fokon ellenállónak értékelték (REX 2012). A betegség megjelenési ideje azonban nem befolyásolja a tünetek súlyosságát és a gazdasági kár mértékét, ezért nem jelent magasabb fokú rezisztenciát, ha egy fajtán később jelennek meg a tünetek. Az eredmények értékelésénél minden fajtánál a teljesen kifejtett tüneteket vettük figyelembe, nem számítva a fertőzéstől eltelt napokat.



32. ábra A feketerothadással szemben ellenálló, génforrásként szolgáló ‘Merzling’, ‘Felicia’ és ‘SV 5276’ pedigréjében szereplő *Vitis* fajok. Vastagon szedve a feketerothadás rezisztenciát mutató általunk tesztelt fajtákat.

A *V. amurensis* a *G. bidwellii* kórokozótól elszigetelten fejlődött faj, amellyel korábban BARRETT (1953) végzett vizsgálatokat, azonban csak két genotípust tesztelt ebből a formagazdag fajból, ami alapján a teljes fajt a nagyon fogékony kategóriába sorolta. Később REX (2012) egy további *V. amurensis* genotípust tesztelve ugyanerre az eredményre jutott. Kísérleteinkben *V. amurensis* faj felhasználásával készült hibridek levél fertőzésének értékelésekor a tesztelt 26 genotíusból 3-nál nagyon magas fokú ellenállóságot találtunk, ami a tünetmentességtől a kisebb, általában piknídiummentes foltok megjelenéséig terjedt. A tesztelt növények túlnyomó része azonban nagyon fogékony kategóriába került.

5.2.1. Feketerothadás levél- és fűrtellenállóság összefüggései

A fűrtök bonítálása során megfigyelt bogyók felszínén fejlődő, majd az érés során leváló, vagy varrasodó foltokat korábban csak *muscadinia* szőlőkön figyelték meg (WILCOX et al. 2015), *vitis* fajokon való megjelenésükről eddig nem találtunk irodalmat. A foltokban kifejlődtek a jól ismert piknídiumok, melyek igazolták, hogy a *G. bidwellii* volt a kórokozó gomba. Az ilyen típusú fűrt rezisztenciával rendelkező fajták nagy gazdasági jelentőséggel bírnak, mivel mérsékelt levéltünetek megjelenésekor sem keletkezik termésveszteség. Ezt a tünettípust elsőként az ‘SV 5276’, ‘Merzling’, ‘5-11-2’, ‘5-10-6’ és ‘5-11-2’ hibrideken figyeltük meg.

A mesterséges lomb- és fűrtfertőzések eredményeinek összevetésekor azt tapasztaltuk, hogy a lombon és a fűrtökön megjelenő tünetek között nincs minden esetben összefüggés. A korreláció számítás eredményei igazolták, hogy nincs szoros kapcsolat a lomb- és fűrtfertőzések eredményei között, mint ahogy az a 21. táblázatban szereplő genotípusok esetében is látható.

A rezisztencianemesítés számára megfelelő genetikai rezisztenciaforrások kiválasztásához nélkülözhetetlen a fűtők mesterséges fertőzésének elvégzése és értékelése. Csak így bizonyosodhatunk meg az adott genotípus feketerothadás ellenállóságának pontos fokáról.

A tünetmentes lombrezisztenciát mutató 'S 7053' fajtánál például fűrtfertőzést követően nagymértékű bogyórothadás jelentkezett, ami a fűrt 50-80%-át elpusztította. A 'GM318-57' esetében a korábbi magas fokú ellenállóság ellenére a fűtők szintén 80-90%-ban károsodtak. A 'Malverina' és 'Teréz' fajták esetében szintén súlyos bogyótüneteket kaptunk mérsékelt lombrezisztenciájuk ellenére.

A három *V. amurensis* származék ('5-11-2', '5-10-6', '5-11-6') fűrtfertőzésekor egyrészt a korábban ismertett új típusú bogyórezisztenciát tapasztaltuk, másrészt volt egy rövid időszak (BBCH71), amikor a megfertőzött bogyókon a betegség teljes lefolyása végbement, bogyómúmiákat hagyva hátra. A múmifikálódott bogyók aránya így is alacsony maradt, mindössze 5-15%, de ez már érezhető a termésmennyiségben.

A Grúzia területéről származó két fajta ('Odjaleshi' és 'Muradouli') mutatott feketerothadással szembeni mérsékelt levéllenállóságot, de fűrtfertőzésüknél nagyfokú fogékonyságot tapasztaltunk, a bogyók 40-80%-a bogyómúmiává alakult. A lomb- és fűrtrezisztencia összevetésével világossá vált, hogy az általunk tesztelt Grúziából származó *V. vinifera* fajták között nem sikerült nemesítésben felhasználható rezisztenciaforrást találni. Ugyanakkor ezekben a vizsgálatokban csak 57 db ezen területről származó fajta tesztelését végeztük el, ami nem zárja ki, hogy *V. vinifera* fajtáknál találhatunk feketerothadás ellenállóságot. Mivel az elmúlt években Grúzia területéről nagyszámú lisztharmat és peronoszpóra rezisztens fajtát azonosítottak (FAILLA 2016; BITSADZE et al. 2015), ami alátámasztja, hogy ezen fajták feketerothadás ellenállóságának tesztelése indokolt lehet. További teszteléseket tervezünk 2019-ben.

21. táblázat Összefoglaló táblázat: fekete rothadás levél- és fűrtrezisztencia értékei a kiválasztott szőlőfajtákon és hibrideken, Pécs.

Fajta/ Hibrid neve	2014		2015			2016		2017			
	Klímaszoba		Klímaszoba			Klímaszoba		Klímaszoba		BR teszt kert	
	levél	levél	levél	levél	fűrt	levél	fűrt	fűrt	fűrt	levél	fűrt
S 7053	9	9	9	9	NF	9	NF	NF	NF	-	-
SV 5276	9	5, 9	9	7	R	7	TR	R	R	-	-
SV 12375	3	5	4	3	NF	4	MF	MF	-	-	-
SV 18315	-	7	4	-	NF	3	NF	NF	-	-	-
Teréz	-	9	9	6	NF	4	NF	NF	-	-	-
Csillám	9	9	9	9	TR	9	TR	TR	TR	9	TR
Felicia	5	-	9	-	TR	8	R	MF	R	5;7;9	TR
Villaris	9	5,7	9	-	-	5	-	-	-	-	-
Merzling	5	-	9	-	TR	7	R	MF	R	8;9	-
GM 318-57	9	7	7	5	MF	5	NF	NF	NF	8	KF
Malverina	7	9	5	7	MF	3	NF	NF	NF	1;3;5	KF
5-11-2	9	-	6;7	9	R	7	R	MF	R	-	-
5-10-6	9	-	7	9	TR	9	R	MF	R	-	-
5-11-6	9	-	3	-	TR	9	R	MF	R	-	-
Muradouli	-	4	-	9	-	5	-	NF	MF	4;5	KF
Odjaleshi	-	5	-	5	-	4	-	NF	-	5	KF
Bianca (c)	1	1	1	-	NF	1	NF	NF	MF	3	-
Furmint (c)	1	1	1	3	NF	1	NF	NF	NF	-	-

(Feketerothadás levélrezisztencia bonitálási skála értékei: 9: tünetmentes rezisztencia; 8-7: magas fokú rezisztencia; 6-5: közepes rezisztencia; 4-3: alacsony rezisztencia; 2-1: nagyon alacsony rezisztencia; -: nem tesztelt. A fűrtök négyfokozatú bonitálási skálája: TR: Tünetmentesen rezisztens; R: Rezisztens; MF: Mérsékelten fogékony; NF: Nagyon fogékony)

A 'Csillám' fajta szabadföldi termő ültetvényében végzett mesterséges fűrtfertőzési kísérletben azt tapasztaltuk, hogy a nagy koncentrációban jelen lévő *G. bidwellii* konídiumok ellenére a fűrtök minden esetben szüretelhető állapotban be tudtak érni. Volt ugyan két állapota (BBCH71 és BBCH73) a fajtának, mikor a bogyók fogékonyabban reagálnak a fertőzésre, de ebben az esetben is csupán a bogyók felületéről az érés során leváló foltok jelentkeztek. A 'Csillám' fűrtök egészséges állapotban beértek, szüretelhetőek voltak.

A szabadföldi több fenológiai stádiumban elvégzett fűrtfertőzések eredményei megerősítették a klímaszobában kapott rezisztencia értékeket, ezáltal a 'Csillám' fajta kiváló fekete rothadás ellenállóságát.

A mesterséges fertőzési kísérleteket kiegészítő szabadföldi megfigyelések az SZBKI Szentmiklóshegyi Kísérleti Telepének feketerothadás tesztelő kertjében folytak. A két év eredményei alátámasztják a 'S 4643' és a 'S 4986' kiemelkedően magas fokú ellenállóságát, mellyel a korábban bemutatott utódaik is rendelkeznek. Itt sikerült megfigyelnünk egyben a kutatás szempontjából értékes forrásokat, magas természetes feketerothadás nyomás alatt, miközben a kontroll fajtákon erős BR tüneteket figyeltünk meg. Önmagukban a szabadföldi megfigyelések ugyanakkor nem elégségesek az egyes genotípusok ellenállóságának megállapításához, szükséges ezeket mesterséges körülmények között is igazolni. Ezért a következő évekre tervezzük a 'CSFT92', 'Vidal blanc', 'CSFT61' és 'S 5656' hibridek mesterséges feketerothadás fertőzésének elvégzését. A korábbi klímaszobás tesztelések alkalmával ellenállóságot mutató genotípusok szabadföldön is rezisztensnek bizonyultak. A fürtök felvételezésekor a klímaszobás tesztelésekkel egyező eredményeket kaptunk. A különböző körülmények között kapott levél- és fürtfertőzések eredményei alapján kijelenthetjük a 'Csillám' fajta kiemelkedő feketerothadás ellenállósággal rendelkezik, mely értékes rezisztenciaforrása teszi. Eredményeink alapján javasoljuk a 'Csillám' fajtának további tanulmányozását és feketerothadás rezisztenciáért felelős génjének azonosítását, valamint további nemesítési munkákban történő felhasználását.

5.3. Feketerothadás rezisztencia értékelése a hibridcsaládokban

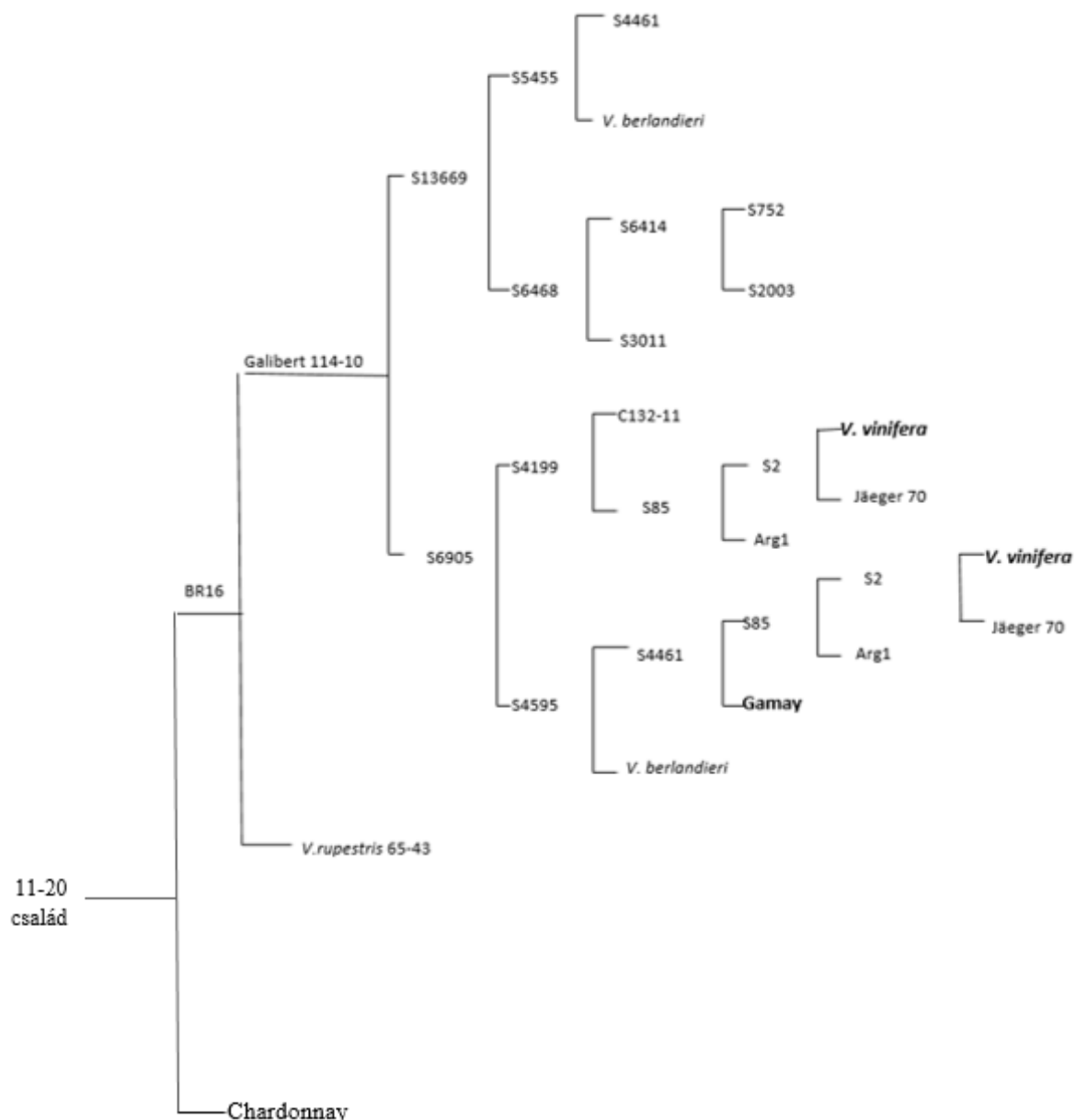
A feketerothadás rezisztencia öröklődésének megfigyelését, majd térképezését elsődlegesen a **12-14-es** (*V. cinerea* x *V. vinifera* F2) és **12-15-ös** (*V. berlandieri* x *V. vinifera* F2) családokon terveztük elvégezni. Első évi (2013) biztató fenotípezési eredményekből, mely szerint 211 egyednél figyeltük meg a feketerothadás rezisztencia valamilyen fokát, egy meglévő feltételezhetően magas fokú a *V. cinerea*-tól származó rezisztencia jelenlétére következtettünk, amiért valószínűleg több gén lehet a felelős. 2014-ben nem volt alkalmunk megismételni a magoncok mesterséges fertőzését, mert a magonccsalád tagjai gyenge növekedést és erős degeneráltságot mutattak. Ezt a folyamatos leromlást tapasztaltuk a további évek során is, valamint a **12-15-ös** család egyedeinél is megfigyeltük, hasonlóan a MCGREW (1976) által publikált megfigyelésekhez. A 2015-2017 közötti levélfertőzések értékelésénél a fogékony növények arányának nagymértékű növekedését tapasztaltuk a bonitálás során. Az eredményeket valószínűleg az időközben elkészült klímaszobának köszönhetjük, ahol 2014-től a mesterséges teszteléseket végeztük. Az új helységben a gombának optimális fertőzési körülményeket tudtunk kialakítani (mesterséges megvilágítás, közel állandó hőmérséklet, szabályozható páratartalom). Ezen szigorúbb feltételek között a 2013-ban még nem szabályozott körülmények között ellenállónak talált magoncok levelein is jórészt kifejlődtek a feketerothadás tünetek.

Ez az új tendencia felvetette a lehetőségét egy esetleges magkeveredésnek, vagy a kiindulási **BR5**-ös szülő tünetmentességének. Ennek ellenőrzésére kértük meg Genéből a rezisztenciát a szakirodalom szerint hordozó hibrideket, melyek a szülőként szerepeltek a keresztezésekben. Az országba beérkező növényanyag első lépésként a Baranya Megyei Kormányhivatal Növény- és Talajvédelmi Igazgatóságához került, amíg igazolták, a hazánkban karantén károsítónak számító mikroorganizmusoktól való mentességüket. A **BR5**-ös hibrid, mint a **12-14**-es család öntermékenyített szülője morfológiai bélyegeken egyezett a magonc család egyedeivel. Mesterséges levélfertőzéskor azonban a várt eredményektől eltérően minden alkalommal megtaláltuk a feketerothadás tüneteit. A 2017-ben kapott bonitálási eredményeink cáfolták a **BR5** hibrid irodalmában szereplő tünetmentes feketerothadás rezisztenciát, azonban igazolták a **12-14**-es család klímaszobában kapott teszt eredményeit. Az eredményeink összesítésével arra jutottunk, hogy a **12-14**-es család mégsem alkalmas a feketerothadás rezisztencia gén vizsgálatára. Mivel az öntermékenyített utódpopulációban nem találtunk nemesítés számára alkalmas feketerothadás rezisztenciaforrást, ezért a tervezett térképezési munkákat sem tudtuk elvégezni. A **BR5** mérsékelt rezisztenciája a kórokozóval szemben kis mértékben, de jelentkezett az utódpopulációban is. Ugyanakkor a családra jellemző termesztési nehézségek indokoltá tették a *V. cinerea* hibridek és ezen populációjának kivonását a munka további menetéből.

Szintén alkalmatlannak találtuk a **12-15**-ös magonc családot a molekuláris munkákhoz, mivel a 2015-2016-ban tesztelt 58 magonc 100%-án erős feketerothadás tüneteket kaptunk a mesterséges levélfertőzések értékelésekor. Az egész populáció tehát a génbanki adatbázissal ellentétben egyöntetűen fogékonyságot mutatott mindkét tesztében. A **BR10-t** (*V. berlandieri* x *V. vinifera* cv. 'Fresno 58-22'), mint a **12-15**-ös család szülőjét szintén fogékonynak találtuk. Tekintve, hogy mind a szülő, mind annak öntermékenyítéséből származó utódpopuláció nagyon fogékonynak bizonyult a klímaszobás tesztelések során, ezért a jövőben nem tervezzük ennek a családnak további vizsgálatát.

A *V. cinerea* és *V. berlandieri* fajok felhasználásával készült családok (**12-14**, **12-15**) kudarca után kezdtünk el komolyabban foglalkozni a **11-20**-as családdal. Mivel ez a család korábban már több szelekciós lépésen átesett, ezért célunk nem a rezisztencia gén(ek) öröklődésének megfigyelése volt, hanem feketerothadás ellenálló alapanyag felkutatása a nemesítési programunkhoz. A család rezisztenciáért felelős szülője a **BR16** (*V. rupestris* 65-43 x 'Galibert 114-11'), mely szintén McGrew egyik feketerothadásra szelektált vonala. A **BR16**-os hibrid tünetmentes feketerothadás ellenállóságáról számolt be REX (2012) disszertációjában, amit az általunk kapott eredmények is megerősítenek. A **11-20**-as család részletes családfáját az 33. ábra tartalmazza, melyen vastagon kiemelve szerepelnek a minőség javításához hozzájáruló *V. vinifera* fajták. A pedigreben több helyen is felbukkan a *V. rupestris* és *V. berlandieri* faj.

A klímaszobás tesztelésekkor a családban nagy számban találtunk tünetmentesen rezisztens egyedeket, melyek szabadföldi körülmények között is bizonyították ezt a magasfokú lomb- és fűrtellenállóságot. További pozitívuma a családnak a többi hibridcsalád magoncaihoz képest, hogy a visszakeresztelésből származó családból több értékes, *V. vinifera* habitusban és minőségben közelálló hibridet kiemeltünk, melyek minőségre is kiemelkedtek. A kiemelt hibrideket 2018 májusában kísérleti parcellákba szaporítottuk fel, hogy 2019-től további vizsgálatokat végezhessünk. Ebben a családban több olyan értékes egyedet találtunk, melyek feltételezhetően alkalmasak lesznek a nemesítési munkákhoz.



33. ábra A 11-20-as hibridcsalád származása. Vastagon szedve a visszakeresztetésekhez felhasznált *V. vinifera* források. (ARG1 = Aramon x *V. rupestris* Ganzin 1; S = Seibel; C = Couderc)

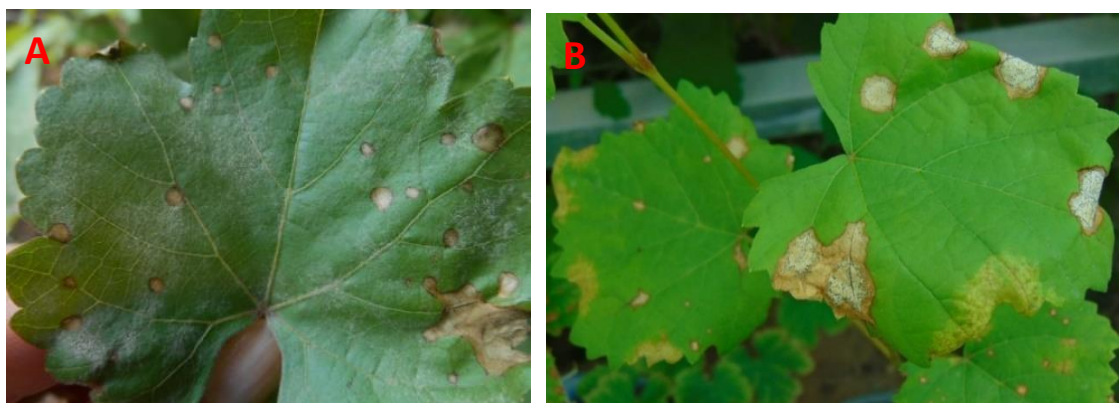
A **11-19-es** család tesztelésével célunk szintén rezisztenciaforrások azonosítása volt. Az első évben kapott reménykeltő eredmények után 2016-ban a korábban ellenállónak értékelt egyedek nagyszámban fertőződtek a *G. bidwellii* által. A család eredetét (9.7. melléklet) vizsgálva megtaláljuk a *V. cinerea* fajt, valamint a feketerothadás levélrezisztenciát hordozó 'S 7053'-t. Mindkét BR forrás esetében találkozhattunk már ilyen ellentétes eredményekkel. A 2016. évi mesterséges tesztelésekkor a dugványok levelei a fertőzésre szinte egyöntetűen tökéletes állapotban voltak, ez is közrejátszhat abban, hogy az előző évhez képest több egyeden jöttek fel a tünetek. A család egyedei erőteljes növekedésűek voltak ugyan, de ellenállóságuk mértéke nem érte el azt a szintet, hogy a továbbiakban érdemes legyen foglalkozni ezzel a családdal.

A **15-4-es** ('SK 00-1/7' x 'Csillám') család a feketerothadás rezisztencia gén öröklődésének vizsgálatához készült. 2015-re a 'Csillám' már bizonyította kiemelkedő, tünetmentes ellenállóságát. A magoncpopuláció homogén, erős növekedésű volt, így a klímaszobás tesztelés értékelésekor a tünetes, fogékony növények egyértelműen elváltak az ellenálló egyedektől. A magoncoknál az első évi, előkísérletnek számító fertőzésekkor 1:1 arányú hasadást figyeltünk meg, amiből arra következtetünk, hogy a 'Csillám'-tól eredő sikeresen átörökölt rezisztenciáért a **15-4-es** családban egy nagyhatású gén a felelős. A **15-4-es** család 2017-ben a hibás földkeverék kipusztult, ezért eredményeinket nem sikerült megerősíteni. A korábban bemutatott családok esetében előfordult, hogy egymást követő években eltérő eredményeket kaptunk a magoncok levél ellenállóságáról. Ezen családok rezisztenciáért felelős szüleit amerikai tesztelési eredmények alapján választottuk ki, ugyanakkor ezen szülők (**BR5**, **BR10**) a pécsi tesztelések alkalmával nem bizonyították rezisztenciájukat az általunk nevelt *G. bidwellii* izolátumokkal szemben. Azonban a 'Csillám' fajta évről évre következetes tünetmentes rezisztenciája, valamint a vele készített magonccsalád ígéretes, megfelelő időben elvégzett teszteredményei alapján érdemesnek gondoljuk ezen kombináció megismétlését és további, mélyebb vizsgálatát, hogy meghatározzuk a feketerothadás rezisztencia gén öröklődését és genomi elhelyezkedését.

5.4. Feketerothadás rezisztencia bonitálásának értékelése, tapasztalatai

A klímaszobában végzett levélfertőzések értékelésekor többször előfordult, hogy ugyanazon genotípus esetén az egymást követő tesztelések során eltérő, egymásnak ellentmondó eredményeket kaptunk. Ezt több a fertőzés kimenetelére hatással levő tényező okozhatja. A feketerothadás tünetek kialakulása nagymértékben függ a megfertőzött növényi részek szöveteinek növekedési intenzitásától és állapotától. A fiatal, növekvésben lévő, még nem kiterült levelek a legfogékonyabbak a *G. bidwellii* fertőzésére. Megfigyeltük, hogy gyenge, tápanyag hiányos növények hajtáscsúcsi fiatal levelein csak kis százalékban jelentkeztek a fertőzés jelei. Az, hogy az adott fertőzéskor a növény milyen kondícióban van, meghatározza szövetek

fogékonyságát, ami miatt szintén kaphattunk eltérő eredményeket az egyes fertőzési kísérletek között. A különböző genotípusoknál eltérést tapasztaltunk a gyökeresedési valamint a növekedési erély között, ami szintén befolyásolhatja a fertőzési eredményeket. Azok a növények, melyek az inkubációs idő alatt nem fejlődtek, azoknak a szövege korábban előregedett, és így kaphattunk tévesen magasabb szintű rezisztencia értéket. Emellett nagy hatása van a jól beállított környezeti feltételeknek a fertőzés kimenetelének sikerességére a mesterséges tesztelésekkor. A nagyméretű növényanyagot minden erőfeszítés ellenére sem lehet teljesen homogenizálni a pécsi fólíásátras nevelés mellett, a folyamatos visszavágások és zöldmunkák ellenére sem tudtuk a dugványokat teljesen azonos fenológiai stádiumban lefertőzni. A fertőzés kivitelezésében esetlegesen előforduló hiba is okozhatta, hogy egy genotípuson 1-es bonitálási érték után 9-es értéket kaptunk. A porlasztóval történő spóra szuszpenzió kijuttatás sem teljesen egyenletesen teríti be a levelek felületét, valamint előfordulhat, hogy a benedvesített levelek felületéről lepereg az inokulum. A 'Csillám' fajta utódai és a Grúziából származó *V. vinifera* fajták feketerothadás fertőzését és értékelését nehezítette az időközben a növények levelein feljövő lisztharmatfertőzés, ugyanis egyes felvetések szerint lisztharmatfertőzött leveleken nem képes kifejlődni a feketerothadás gomba (Dula Terézia szóbeli közlés 2017). Azt már korábban megfigyeltük, hogy gyengült, beteg leveleken kisebb arányban alakultak ki a feketerothadás tünetei, a lisztharmat gomba fertőzésének következtében pedig bizonyítottan veszítenek életképességükből a növények. Azonban ez az állítás a természetben nem feltétlenül állta meg a helyét, mivel az értékelések során találtunk olyan egyedeket, melyen a lisztharmat (34/A. ábra) és a peronoszpóra (34/B. ábra) jellegzetes tünetei is kifejlődtek a feketerothadás mellett.



34. ábra Szőlőlevélen feketerothadás tünetek mellett kifejlődő lisztharmat (A) és peronoszpóra (B) tünetek 2017, Pécs.

A mesterséges feketerothadás fűrtfertőzések értékelésénél az első akadályt az jelentette, hogy nem találtunk a rezisztencia fokát pontosan leíró bonitálási skálát. Ezért egy egyszerűen használható négyfokozatú rendszert dolgoztunk ki (3.4.2. fejezet), melyet 2017-ben publikáltunk (ROZNIK et

al. 2017). Ez a négyfokozatú skála jól alkalmazható szabadföldi és mesterséges fertőzések értékeléséhez is.

A *G. bidwellii*-vel elvégzett mesterséges fertőzések és a bonitálás közötti hosszú az inkubációs idő, és az ezalatt esetlegesen fellépő, a fertőzés sikerességét befolyásoló tényezők kiküszöbölése miatt kerestünk alternatívát a hagyományos mesterséges feketerothadás levélfertőzésre. A papírkorongos módszert ezzel a céllal végeztük el, mint egy előkísérletet, hogy alkalmas-e az inkubációs idő rövidítésére. Az inokulációt követő első 48-72 órában a fogékony genotípusok már jól elkülöníthetőek a *G. bidwellii* fejlett hifahálói alapján, az ellenállósággal rendelkező genotípusoktól. Habár a kivágott levélkorongok festése és mikroszkópos átvizsgálása hosszadalmas feladat, ugyanakkor laboratóriumban rutinszerűen kivitelezhető. A gomba növekedése a levélszövetben etanol-ecetsav (3:1 V/V%) oldattal egyszerűen leállítható és rögzíthető, majd tárgylemezen biztonságban tárolható, ezért a kísérlet kiértékelése az év során bármikor elvégezhető. Ezáltal alternatívát jelent a levélfertőzési kísérletekben, amit érdemes elvégezni az ellenállóság megállapításához

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A feketetrohadás a peronoszpóra és a lisztharmat mellett az egyik legveszélyesebb betegsége a világszerte termesztett szőlőnek, a *Vitis vinifera*-nak. A megbetegedést a *Guignardia bidwellii* (Ellis) Viala et Ravaz) észak-amerikai eredetű gomba okozza. A kórokozó Franciaországban már 1885-ben bizonyítottan jelen volt, de járványok csak a 2000-es évek óta alakultak ki. A nem, vagy csak korlátozott (pl. ökológia szőlőtermesztés) vegyszeres védelemben részesülő ültetvényekben akár 100%-os termés kiesést is okozhat. Hazánkban 2010 óta rendszeresen megfigyelhető kártétele, a járványoknak kedvező környezeti feltételek teljesülésekor (hosszan tartó csapadékos, párás időszakban). A feketetrohadás rendszeres fellépésének és kártételének potenciális és nagy gazdasági kárral fenyegető veszélye miatt új, kihívást jelentő betegségként tartjuk számon. A gomba képes a szőlő minden növekvésben lévő zöld részét (levél, fürt, kocsány, hajtás) megtámadni. A legtöbb termesztett szőlőfajta, de a *V. vinifera* fajták különösen, fogékonyak a feketetrohadásra. Vegyszeres kezeléssel hatékonyan védekezhetünk a feketetrohadással szemben. Ugyanakkor az EU-ban készített felmérések szerint (EuroStat) a szőlőben használják fel a legnagyobb mennyiségű kemikáliát a mezőgazdaságban.

A PTE Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet 2000-ben indított nemesítési programjának célja a környezetkímélő szőlőtermesztés megalapozása a tartósan rezisztens, ugyanakkor versenyképes minőséggel rendelkező fajták nemesítésével. Eddig a lisztharmattal és peronoszpórával szembeni rezisztencia biztosítása volt a fő cél. Ennek eredményeként több magas fokon ellenálló innovatív fajtát, fajtajelöltet sikerült előállítani, azonban ezek mind fogékonynak bizonyultak a feketetrohadásra. Ezért 2013-tól célunk a feketetrohadás rezisztencia beépítése ezen innovatív fajtákba. A feketetrohadás rezisztencia beépítésének első lépése a nemesítés számára alkalmas donorok feltárása a *Vitis* nemzetségben. A doktori disszertáció kutatásának elsődleges területe a feketetrohadás rezisztencia források azonosítása, az általuk örökölt rezisztencia és a kórokozó természetének megismerése volt.

Az alapanyag kereséshez összesen 168 különböző genetikai forrásból származó szőlőfajtát és hibridet fertőztünk meg mesterségesen feketetrohadás gombával, majd bonitáltuk, hogy tiszta képet alkothassunk a genotípusok ellenállóságáról. A munka keretében elsőként a kórokozó gombát szabadföldről begyűjtöttük, izoláltuk, majd visszaellenőriztük. *In vitro* nevelésének körülményeit 2014-2016 között elvégzett táptalajkísérletek és sporulációs vizsgálatok során sikeresen optimalizáltuk. Felfedeztük, hogy a *G. bidwellii* a 10 V/V%-ban szőlőmustot tartalmazó zabliszt alapú táptalajon intenzívebb micélium növekedést és magasabb spóraszámot produkál az általános protokoll szerinti tápközegekhez képest. Ennek révén a tömeges növényanyag egyidejű fertőzéséhez időzítve és megfelelő mennyiségben állt rendelkezésünkre a tesztekhez szükséges *G. bidwellii* konídium szuszpenzió. A bonitálást a zöld növényi részekben kialakuló tünetek

különböző rezisztencia fokozatokba sorolásával végeztük. Eredményeink alapján egy fajta levelén és bogyóján jelentkező tünetek nem korrelálnak szorosan egymással, ezért a rezisztenciaforrások kiválasztásánál a fürtfertőzést is el kell végezni.

A több éven át tartó (2013-2017) kísérletsorozat alatt 5 magas fokú rezisztenciával rendelkező tételt azonosítottunk. A 'Csillám' fajtán mesterséges feketetrohadás fertőzések többszöri ismételése során, egyetlen fenofázisban sem tapasztaltunk tüneteket. A 'Csillám' fajtánál azonosított kiemelkedő feketetrohadás ellenállóság új tudományos eredmény, melynek a gyakorlati értéke magas. A fajta a Kertészeti Egyetem nemesítési programjában 'Kékfrankos' x 'Seibel 4643' fajták keresztezésével készült, jó minősége mellett agronómiai tulajdonságai is kedvezőek. Ezért a 'Csillám' fajta értékesebb rezisztenciaforrás a nemesítés számára, mint a korábban javasolt 'Villard blanc', vagy a 'Börner' alanyfajta. A 'Seyval blanc' és a 'Merzling' fajták feketetrohadás ellenállóságáról már korábban beszámoltak, ugyanakkor elsőként sikerült ezt levelén és fürtön egyaránt igazolni. Mind a három fent említett fajta az észak-amerikai *Vitis* fajoktól származik, melyek a *G. bidwellii*-vel ko-evolúcióban élnek. Figyelemre méltó még a kelet-ázsiai *V. amurensis* fajtól származó jó lomb és fürt ellenállóságú két hibrid ('5-11-2' és '5-10-6'). A 'Seyval blanc', 'Merzling', '5-11-2' és '5-10-6' fajtákon egy eddig csak *muscadinia* szőlőkön publikált, ezért *vitis* fajokon új típusú bogyó tünetet figyeltünk meg. A megjelenő felszíni foltokban kevés piknidium ugyan kifejlődött, de a bogyók növekedése során a foltok leváltak és ép bőrszövet maradt a helyükön. Az ilyen típusú fürt- és levélrezisztenciával rendelkező fajták nagy gazdasági jelentőséggel bírnak, mivel súlyos fertőzés hatására sem következik be termésveszteség. A többi vizsgált szőlőfajta és hibrid mind fogékonyak/nagyon fogékonyak bizonyult a *G. bidwellii* fertőzésével szemben.

Értékes tapasztalatokat nyertünk a feketetrohadás rezisztencia öröklődéséről a PTE SZBKI-ban előállított/nevelt hibridcsaládok mesterséges fertőzésével, ugyanakkor ezen eredmények még további vizsgálatra, megerősítésre szorulnak.

A 2018-ban induló OTKA pályázatunkban tervezzük a 'Csillám' fajta keresztezésével hasadó hibridcsaládok létrehozását. Az utódokat mesterséges fertőzés után rezisztenciafokozatokba soroljuk be. A fenotípusok ismeretében újgenerációs szekvenálás alapján SNP-k azonosítását tervezzük, ezek felhasználásával genetikai térképet készítünk a rezisztenciáért felelős genomi régiók azonosításához. Továbbá rezisztencia génekhez kapcsolt molekuláris markereket fejlesztünk, melyek a nemesítési munka során felhasználhatóak a korai szelekcióra.

7. SUMMARY

Black rot is a dangerous disease of the cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.) besides powdery and downy mildews. *Guignardia bidwellii* ((Ellis) Viala et Ravaz) the causal agent of grapevine black rot disease originates from North America. In France, the presence of black rot was documented in 1855, however, no major epidemics occurred until 2000. The increased spring temperatures of the last decades are supposed to contribute to black rot epidemics. Abandoned vineyards and the organic viticultured wine growing areas served as reservoir of the pathogen. Epidemics are increasingly common in grape growing regions of Europe, causing severe crop losses, which can reach up to 100%. In Hungary the first epidemics appeared in 2010 demonstrating that climatic conditions (humid, rainy periods in May and June) can favour this pathogen. Since that time black rot has become one of the major fungal grape disease and had a significant importance. The fungus attacks all green parts of the vine: leaves, shoots, stems, tendrils and fruits. All commercially important *V. vinifera* cultivars are susceptible to black rot. Application of fungicides is the primary strategy used to control black rot in most commercial vineyards. According to analysis by the European Institute of Statistics (EuroStat), the use of fungicides in viticulture is much higher than in any other agricultural sector within Europe.

At the Research Institute Viticulture and Enology of the University of Pécs started breeding programme in 2000 with the aim to establish the sustainable viticulture with innovative powdery and downy mildews resistant varieties. Thus their cultivation makes it possible to reduce drastically the frequency of pesticide application in viticulture. For this purpose the perfect wine quality and long-term resistance must be combined. As a result, several innovative candidates and varieties with high-resistance were produced, but at the same time they proved to be susceptible to black-rot. From 2013, our aim has been to incorporate black rot resistance genes into our new innovative genotypes bearing high levels of downy and powdery mildew resistance.

The first phase in this work was to find donors appropriate for breeding in the genus *Vitis*. The main goal of my PhD research was the identification of different resistance sources, and then observe the inheritance of the putative resistance genes. This study wants to improve our knowledge about the biology of *G. bidwellii*.

Altogether 168 accessions, from different *Vitis* resources were artificially inoculated with spores of *G. bidwellii* and finally were evaluated for black rot resistance in four consecutive years (2014-2017). Our black rot isolates -which were collected in Pécs's vineyards- were identified by molecular markers. *In vitro* conditions of propagation were optimized. Oatmeal agar (OA) with additional 10% must was the most effective medium in *in vitro* experiments to propagate *G. bidwellii*. This OA medium resulted the strongest mycelium growth and the most abundant

pycnidium production. High temperatures between 25 and 26 °C and constant black light (UV-A) is also necessary to gain in appropriate time adequate amount of inocula. Resistance was evaluated 14 and 21 days after inoculation, symptoms were evaluated by scoring symptom severity on leaf and green parts. Parallel tests for leaf and berry resistance concluded that symptoms detected on leaves are not always in agreement with symptoms detected on berries. Consequently, cluster infection must be carried out to select resistance sources.

Based on our screening five accessions showed outstanding leaf and berry resistance. The Hungarian bred interspecific variety 'Csillám' was originated from a cross of 'Roi des noirs' and 'Kékfrankos'. 'Csillám' was the only cultivar in the screening which did not show any symptoms in four independent assays/phenophase. We characterized one new highly symptomless resistance to black rot in 'Csillám'. It is a new scientific result with a high practical value. Therefore, we suggest 'Csillám', as an appropriate breeding material, because this variety is more valuable source for resistance breeding than the previously proposed 'Villard blanc' or 'Börner'. Resistant to black rot in 'Seyval blanc' and 'Merzling' varieties has been reported earlier, but systematic phenotypic analysis both on leaf and cluster was described firstly here. The above mentioned three varieties derived from North-American *Vitis* species are going to stimulate breeders to use and identify the genetic background of these observed resistances. Interestingly, among *Vitis amurensis* x *V. vinifera* hybrids two accessions ('5-11-2', '5-10-6') showed high level of resistance. In case of 'Seyval blanc', 'Merzling', '5-11-2', '5-10-6' varieties and hybrids we noticed a new type of black rot lesion, when superficial, scabby lesions as symptoms could be visualized on the berry skin, which did not cause the decay of the berry. The symptom of scabby lesions on berry skin was not described for the *Vitis* genus before. Cultivars possessing this kind of berry resistance are of high economic importance, because even if slight leaf symptoms appear under high disease-pressure conditions, no yield loss will occur under field conditions. We constructed some hybrid family to investigate the inheritance of black rot resistance. We have gained valuable observations based on phenotyping data, but our results need further confirmation.

In a new OTKA project started in 2018 we are planning to create segregating population with crossing 'Csillám' and a sensitive partner. After artificial infection the progeny will be classified on phenotypic level. According to the phenotype Single Nucleotide Polimorphisms (SNPs) will be identified based on Next Generation Sequencing. SNPs will be used to create a genetic map and to localise genomic regions responsible for black rot resistance. Molecular markers linked to the resistance carrying regions will be developed, for application in MAS (Marker based selection) supported breeding.

8. IRODALOMJEGYZÉK

1. AGRIOS, G.N. (2005): Plant Pathology. Elsevier, Academic Press, 952-954. p.
2. ALEXOPOULOS, C.J., MIMS, C.W., BLACKWELL, M. (1996): Introductory Mycology, Fourth edition. New York: Wiley, 868. p.
3. ALLEWELDT, G. (1979): L'amélioration des vignes résistantes aux champignons et au phylloxera. *Bulletin OIV* 52, 583:691-699. p.
4. ALONSO-VILLASVERDE, V., VOINESCO, F., VIRET, O., SPRING, J.L., GINDRO, K. (2011): The effectiveness of stilbenes in resistant *Vitaceae*: ultrastructural and biochemical events during *Plasmopara viticola* infection process. *Plant Physiol Biochem*, 49:265-274. p.
5. ANDERSON, H.W. (1956): Diseases of fruit crops. New York: McGraw-Hill, 501. p.
6. BARRETT, H.C. (1953): A Survey of Black rot Resistance of the Foliage of Wild Grape Species. *Pro. Amer Soc Hort Sci*, 62:319-322. p.
7. BARRETT, H.C. (1955): Black rot resistance of foliage on seedlings in selected grape progenies. *Proc. Amer Soc Hort Sci*, 66:220-224. p.
8. BECKER, H. (1977): Results of interspecific hybridisation in Geisenheim. In: *Proc 2nd Int Symp Grape Genet Breed* (1977) (Bordeaux): proceedings, 165-171. p.
9. BECKER, C.M., PEARSON, R.C. (1996): Black rot Lesions on overwintered canes of Euvitis Supply Conidia of *Guignardia bidwellii* for primary inoculum in Spring. *Plant Disease*, 80:24-27. p.
10. BÉNYEI F., LŐRINCZ A. (2005): Borszőlőfajták, csemegeszőlő-fajták és alanyok. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 346. p.
11. BITSADZE, N., AZNARASHVILI, M., VERCESI, A., CHIPASHVILI, R., FAILLA, O., MAGHRADZE, D. (2015): Screening of Georgian grapevine germplasm for susceptibility to downy mildew (*Plasmopara viticola*). *Vitis* 54 (Special Issue): 193-196. p.
12. BOUBALS, D. (1961): Étude des causes de la résistance des Vitacées à l'oidium de la vigne (*Uncinula necator* (Schw.) Burr.) et de leur mode de transmission héréditaire. *Ann Amélior Plant*, 11:401-500. p.
13. BOUQUET, A. (1980): *Vitis* x *Muscadinia* hybridisation: a new way in grape breeding for disease resistance in France. *Proc 3th Int Symp Grape Genet Breed* (1980) (Davis): 42-61. p.
14. BOUQUET, A. (1986): Introduction dans l'espèce *Vitis vinifera* L. d'un caractère de résistance à l'oidium (*Uncinula necator* Schw. Burr.) issu l'espèce *Muscadinia rotundifolia* (Michx.) Small. *Vignevine*, 12 (suppl):141-146. p.
15. CALTRIDER, P.G. (1960): Growth and Sporulation of *Guignardia-Bidwellii* in Pure Culture and in the Field. *Phytopathology*, 50:630-630. p.
16. CALTRIDER, P. G. (1961): Growth and sporulation of *Guignardia bidwellii*. *Proc W Va Acad Sci*, 30:142. p.
17. CATTELL, H., MILLER, L.S., (1980): The Wines of the East – Native American Grapes. Eastern Wine Publications; Lancaster, PA: L & H Photojournalism.
18. CORNELL Cooperative and Penn State Cooperative Extension. (2001): New York and Pennsylvania Pest Management Recommendations for Grapes, 37. p.
19. CSEPREGI P., ZILAI J. (1988): Szőlőfajta-ismeret és használat. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 508. p.
20. CSIZMAZIA J., BEREZNAI L. (1968): A szőlő *P. viticola* és a *Viteus vitifolii* elleni rezisztencianemesítés eredményei. Orsz Szől Bor Kut Int Évk, Budapest, 191-200. p.
21. DALBÓ, M.A., YE, G.N., WEEDEN, N.F., WILCOX, W.F., REISCH, B.I. (2001): Marker-assisted selection for powdery mildew resistance in grapes. *J Am Soc Hort Sci*, 126:83-89. p.
22. DEÁK T., FARKAS E., BÁLÓ B., BISZTRAY GY.D. (2018): Fitoalexinek szerepe a szőlő betegség ellenállóságában, a nemesítés lehetőségei. *Agrofórum extra*, 76:67-69. p.

23. DEMAREE, J.B., DIX, I.W., MAGOON, C.A. (1937): Observation on the resistance of grape varieties to black rot and downy mildew. *Proc Am Soc Hortic Sci*, 126:83-89. p.
24. DI GASPERO, G., COPETTI, D., COLEMAN, C., CASTELLARIN, S. D., EIBACH, R., KOZMA, P. (2012): Selective sweep at the Rpv3 locus during grapevine breeding for downy mildew resistance. *Theor Appl Genet*, 124:277–286. p.
25. DULA T. (2012): A szőlő feketerothadása. *Agrofórum extra*, (46):24-27. p.
26. EIBACH, R., ZYPRIAN, E., WELTER, L., TÖPFER, R. (2007): The use of molecular markers for pyramiding resistance genes in grapevine breeding. *Vitis*, 46:120-124. p.
27. ELLIS, M., NITA, M. (2004): Disease Management Guidelines for Organic Grape Production in the Midwest. The Ohio State University OARDC/OSUE, Wooster OH. <http://www.oardc.ohio-state.edu/fruitpathology/organic/PDF/OSU-Organic-Grape-Diseases.pdf>
28. FAILLA, O. (2016): Screening for new sources of powdery and downy mildew resistance. In: InnoVine Final symposium (2016) (Toulouse): <http://www.innovine.eu>
29. FECHTER, I., HAUSMANN, L., ZYPRIAN, E., DAUM, M., HOLTGRÄWE, D., WEISSHAAR, B., TÖPFER, R. (2014): QTL analysis for flowering time and ripening traits suggest an impact of a genomic region on linkage group 1 in *Vitis*. *Theor Appl Genet*, 127:1857-1872. p.
30. FERRIN, D.M., RAMSDELL, D.C. (1977): Ascospore Dispersal and Infection of Grapes by *Guignardia bidwellii*, Causal Agent of Grape Black Rot Disease. *Phytopathology*, 67:1501-1505.p.
31. FERRIN, D.M., RAMSDELL, D.C. (1978): Influence of conidia dispersal and environment on infection of grape by *Guignardia bidwellii*. *Phytopathology*, 68:892-895. p.
32. GABASTON, J., CANTOS-VILLAR, E., BIAIS, B., WAFFO-TEGUO, P., RENOUEF, E., CORIO-COSTET, M.F., MÉRILLON, J.M. (2017): Stilbenes from *Vitis vinifera* L. Waste: A Sustainable Tool for Controlling *Plasmopara Viticola*. *J Agric Food Chem*, 5(13):2711-2718. p.
33. GADOURY, D.M., SEEM, R.C., FICKE A, WILCOX, W.F. (2003): Ontogenic resistance to powdery mildew in grape berries. *Phytopathology*, 93:547–555. p.
34. GALET, P. (1988): Cépages et vignobles de France. Tome 1. Les vignes américaines. Montpellier, France: imprimerie Charles Dehan, Parc Euromedicine.
35. GAO, L., LIU, X. (2010): Effects of carbon concentrations and carbon to nitrogen ratios on sporulation of two biological control fungi as determined by different culture methods. *Mycopathologia*, 169:475-481. p.
36. HAJDU E., ÉSIK A. (2001) Új magyar szőlőfajták. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 170. p.
37. HARMS, M., HOLZ, B., HOFFMANN, P.G., LIPPS, H.P., SILVANUS, W. (2005): Occurrence of *Guignardia bidwellii*, the causal fungus of black rot on grapevine, in the vine growing areas of Rhineland-Palatinate, Germany. BCPC symp. proceedings, 81:127-132. p.
38. HARTMAN, J. HERSHMAN, D. (1988): Black Rot of Grapes, College of Agriculture, University of Kentucky: <http://www.ca.uky.edu/agc/pubs/ppa/ppa27/ppa27.htm>.
39. HAUSMANN, L., REX, F., TÖPFER, R. (2017): Evaluation and genetic analysis of grapevine black rot resistances. *Acta Hortic*, 285-290. p. In: Pezotti, M. (eds) ISHS. Acta Hortic. Proc. X Int. Symp. on Grapevine Physiology and Biotechnology
40. HAWKSWORTH, D.L. et al. (2011): The Amsterdam declaration on fungal nomenclature. *IMA. Fungus*, 2:105–112. p.
41. HNT (Hegyközségek Nemzeti Tanácsa) (2016): Magyarország szőlészetének és borászatának helyzete. Háttér tanulmány az ágazati stratégiához. www.hnt.hu
42. HOFFMAN, L.E., WILCOX, W.F. (2002): Utilizing epidemiological investigations to optimize management of grape Black rot. *Phytopathology*, 92:676-680. p.
43. HOFFMAN, L.E., WILCOX, W.F., GADOURY, D.A., SEEM, R.C. (2002): Influence of grape berry age on susceptibility to *Guignardia bidwellii* and its incubation period length. *Phytopathology*, 92:1068-1076. p.

44. HOFFMAN, L.E., WILCOX, W.F., GADOURY, D.M., SEEM, R.C., RIEGEL, D.G., (2004): Integrated control of grape black rot: influence of host phenology, inoculum availability, sanitation, and spray timing. *Phytopathology*, 94: 641-650. p.
45. HOFFMANN S. (2008): Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása a szőlő lisztharmat és peronoszpóra rezisztenciára nemesítésében. Doktori értekezés. Gödöllő.
46. HOFFMANN S., Di GASPERO, G., KOVÁCS, L., HOWARD, S., KISS, E., GALBÁCS, Z., TESTOLIN, R., KOZMA, P. (2008): Resistance to *Erysiphe necator* in the grapevine 'Kishmish vatkana' is controlled by a single locus through restriction of hyphal growth. *Theor Appl Genet* 116:427-438. p.
47. HOFFMANN S., ROZNIK D., KOZMA P., DULA T. (2018): Fokozódó jelentőségű, új kihívást jelentő betegség a szőlőültetvényekben: a feketerothadás. *Agrofórum extra*, 76:60-63. p.
48. JABCO, J.P., NESBITT, W.B., WERNER, D.J. (1985): Resistance of various classes of grapes to the bunch and muscadine grape forms of black rot. *J Am Soc Hortic Sci*, 110:762–765. p.
49. JACKSON, M.A. (1997): Optimizing nutritional conditions for the liquid culture production of effective fungal biological control agents. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 19:180-187. p.
50. JAILLOUX, F. (1992): *In vitro* production of the teleomorph of *Guignardia bidwellii*, causal agent of black rot of grapevine. *Can J Bot*, 70:254-257. p.
51. JANEX-FAVRE, M.C., PARGUEY-LEDUC, A., JAILLOUX, F. (1993): The ontogeny of pycnidia of *Guignardia bidwellii* in culture. *Mycol Res*, 97:1333-1339. p.
52. JANEX-FAVRE, M.C., PARGUEY-LEDUC, A., JAILLOUX, F. (1996): The ontogeny of perithecia of *Guignardia bidwellii*. *Mycol Res*, 100:875-880. p.
53. JEANDET, P., DOUILLET, A.C., DEBORD, S., SBAGHI, M., BESSIS, R., ADRIAN, M. (2002): Phytoalexins from the *Vitaceae*: biosynthesis, phytoalexin gene expression in transgenic plants, antifungal activity, and metabolism. *J Agric Food Chem*, 50:2731–2741. p.
54. JERMINI, M., GESSLER, C. (1996): Epidemiology and control of grape black rot in southern Switzerland. *Plant Disease*, 80:322-325. p.
55. KASERER, H., REGNER, F., SCHÖFFL, G., BLAHOUS, D. (1996): Rösler, Rathay und Seifert. Drei neue Rotweinsorten der Klosterneuburger Rebenzüchter. *Klosterneuburg*, 52:(5)11-15. p.
56. KELLNER N., DEÁK T., BISZTRAY GY. D., VÁCZY K. Z., DULA T. (2014): A szőlő feketerothadása és a fertőzésre adott növényi válasz vizsgálata RNS szinten. *Agrofórum* 25:(9)120-124. p.
57. KENDRICK, B. (1992): The Fifth Kingdom. Second Edition, Waterloo, ON: Mycologue Publications, 406. p.
58. KISS E., TÓTH-LENCSE K., SZÓKE A., ROZNIK D., KERÉKES A., VERES A., KOZMA P. (2017): Origin of cv. 'Csillám' a promising source for black rot resistance. *Vitis*, 56:53–54. p.
59. KOCH, S., ANDRÉ, A., EDWARDS, H., EHRHARDT, D., SOMERVILLE, S. (2005): *Arabidopsis thaliana* subcellular responses to compatible *Erysiphe cichoracearum* infections. *Plant J*, 44:516-529. p.
60. KOCH, E., ENDERS, M., ULLRICH, C., MOLITOR, D., BERKELMANN-LÖHNERTZ, B. (2013): Effect of *Primula* root and other plant extracts on infection structure formation of *Phyllosticta ampellicida* (asexual stage of *Guignardia bidwellii*) and on black rot disease of grapevine in the greenhouse. *J Plant Dis Protect*, 120:26-33. p.
61. KONG, G. (2009): PaDIL - Plant Biosecurity Toolbox in: Diagnostic Methods for Black Rot of Grapes *Guignardia bidwellii*. <http://www.padil.gov.au/pbt>
62. KORBULY J. (2000): Results of breeding for resistance to winter frosts and different pathogens using *V. amurensis*. 7th Int Symp Grape Gen Breed. In: *Acta Horticult*, 258:551-558. p.
63. KORBULY J. (2018): A szőlő rezisztencianemesítésének története, magyarországi eredményei. *Agrofórum*, 76:7-13. p.

64. KOZMA P., NAGY SZ., SESZTÁKNÉ L. (1986): Néhány új interspecifikus hybrid szőlőfajta jelöltünk termesztési értéke. *Kertészeti Egyetem Közleményei*. Budapest, 49(17):23-29. p.
65. KOZMA P., KISS E., HOFFMANN S., GALBÁCS Zs., DULA T. (2006): Using the powdery mildew resistant *M. rotundifolia* and *V. vinifera* cv. Kishmish vatkana for breeding new cultivars. IX.th I.C. G.G.B. (Udine) In: *ISHS Acta Horticult*, 827:559-564. p.
66. KOZMA P., WERNER J., CSIKÁSZINÉ-KRIZSICS A., HOFFMANN S. (2010): Német Márton hagyatéka Pécsen, kutatásainak hatása a mai szőlőkultúrára. *Kertgazdaság*, 42:56-72. p.
67. KOZMA P., ROZNIK D. (2019): A borszőlő rezisztencia nemesítésének eredményei a PTE SZBKI-ben. XXV. Növénynemesítési Tudományos Napok Proceeding, in press. 2019.
68. KUO, K., HOCH, C.H. (1995): Visualization of the extracellular matrix surrounding pycnidiospores, germings, and appressoria of *Phyllosticta ampellicida*. *Mycologia*, 87(6):759-771. p.
69. KUO, K., HOCH, C.H. (1996a): Germination of *Phyllosticta ampellicida* pycnidiospores: Prerequisite of adhesion to the substratum and the relationship of substratum wettability. *Fungal Genet Biol*, 20:18-29. p.
70. KUO, K., HOCH, H.C. (1996b): The parasitic relationship between *Phyllosticta ampellicida* and *Vitis vinifera*. *Mycologia*, 88:626-634. p.
71. LEHOCZKY J., REICHART G. (1968): A szőlő védelme. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó, 264. p.
72. LINHART GY., MEZEY, GY. (1892): A szőlő „black rot” betegsége. *Természettudományi Közlöny*, XXIV. Kötet. 271. p.
73. LIPPS, H.P., HARMS, M. (2004): Schwarzfaule - ein neues Problem im deutschen Weinbau. *Die Winzer-Zeitschrift*, 19:28-29. p.
74. LORENZ, D.H., EICHORN, K.W., BLEIHOLDER, H., KLOSE, R., MEIER, U., WEBER, E. (1995): Growth Stages Of The Grapevine: Phenological Growth Stages Of The Grapevine (*Vitis vinifera* L. Ssp. *vinifera*)—Codes And Descriptions According To The Extended BBCH Scale. In: *Aust J Grape Wine Res*, 1(2):100-103. p.
75. LOSKILL, B., MOLITOR, D., KOCH, E., HARMS, M., BERKELMANN-LÖHNERTZ, B., HOFFMANN, C., KORTEKAMP, A., PORTEN, M., LOUIS, F., MAIXNER, M. (2009): Strategien zur Regulation der Schwarzfäule (*Guignardia bidwellii*) im ökologischen Weinbau. Förderkennzeichen. <http://orgprints.org/17072/1/17072-04OE032-jki-maixner-2009-schwarzfaule.pdf>
76. LOSKILL, B., KORTEKAMP, A., HARMS, M., KOCH, E., BERKELMANN-LÖHNERTZ, B., MOLITOR, D., MAIXNER, M. (2010): Schwarzfäule (*Guignardia bidwellii*) der Rebe—Befallsprävention und Möglichkeiten der Regulation im ökologischen Weinbau. 57. Deutsche Pflanzenschutztagung, (2010)(Berlin): Kurzfassungen der Beiträge. In: Julius-Kühn-Archiv, 428:71–79. p.
77. LUTTRELL, S.L. (1946): Black rot of muscadine grapes. *Phytopathology*, 36:905-924. p.
78. LUTTRELL, E.S. (1948): Physiologic specialization in *Guignardia bidwellii*, cause of black rot of *Vitis* and *Parthenocissus* species. *Phytopathology*, 38:716-723. p.
79. LUTTRELL, E.S. (1974): Parasitism of Fungi on Vascular Plants. *Mycologia*, 66:1-15. p.
80. MADDEN T. (2002): The BLAST Sequence Analysis Tool. In: MCENTYRE, J., OSTELL J., (eds.) *The NCBI Handbook*. US: Bethesda, Chapter 16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21097/>
81. MCGREW, J.R. (1976): Screening Grape Seedlings for Black Rot Resistance. *Fruit Varieties Journal*, 30:1.31-32. p.
82. MIKULÁS, J., LÁZÁR, J., NYESTI, P. (1999): Hazai szőlőültetvényeink új gombabetegségének (feketerothadás - *Guignardia bidwellii*) jelentősége Tokaj-hegyalján. 4. Tiszántúli Növényvédelmi Fórum (1999) (Debrecen). Összefoglalók, 25-26. p.

83. MOHR, H.D. (2005): Farbatlas Krankheiten, Schädlinge und Nützlinge an der Weinrebe. Stuttgart.
84. MOLITOR, D., (2009): Biologie und Bekämpfung der Schwarzfäule (*Guignardia bidwellii*) an Weinreben. Geisenheimer Berichte Bd. 65. Gesellschaft zur Förderung der Forschungsanstalt Geisenheim, Germany.
85. MOLITOR, D., HEIBERTSHAUSEN, D., BAUS, O., LOSKILL, B., MAIXNER, M., BERKELMANN-LÖHNERTZ, B. (2010): Einsatz eines *Sapindus mukorossi*-Extraktes zur Regulierung von pilzlichen Pathogenen an Weinreben – eine Alternative für den ökologischen Rebschutz? *J Kulturpflanzen*, 62:444-450. p.
86. MOLITOR, D., BERKELMANN-LOEHNERTZ, B. (2011): Simulating the susceptibility of clusters to grape black rot infections depending on their phenological development. *Crop Protection*, 30:1649-1654. p.
87. MOLITOR, D., BAUS, O., BERKELMANN-LÖHNERTZ, B. (2011): Protective and curative grape black rot control potential of pyraclostrobin and myclobutanil. *J Plant Diseases Protect*, 118(5):161–167. p.
88. MOLITOR, D., FRUEHAUF, C., BAUS, O., BERKELMANN-LÖHNERTZ, B. (2012): A cumulative degree-day-based model to calculate the duration of the incubation period of *Guignardia bidwellii*. *Plant Disease*, 96(7):1054–1059. p.
89. MOLITOR, D., AUGENSTEIN, B., MUGNAI, L., RINALD, JORGE, P.A., HED, S., DUBUIS, P.H., JERMINI, M., KÜHRER, E., BLEYER, G., HOFFMANN, L., BEYER, M. (2015): Composition and evaluation of a novel web-based decision support system for grape black rot control. *Eur J Plant Pathol*, 144(4):785-798. p.
90. NARDUZI-WICHT, B., JERMINI, M., GESSLER, C., BROGGINI, G.A.L. (2014): Microsatellite markers for population studies of the ascomycete *Phyllosticta ampellicida*, the pathogen causing grape black rot. *Phytopathologia Mediterranea*, 53 (3):470–479. p.
91. NEGRUL, A.M. (1946): Proizhozsdenie kul'turnogo vinograda i ego klassifikacija. In *Ampelografija SzSzSzR, PISCHEPROMIZDAT, MOSKVA: I.tom*, 159-216. p.
92. NORTHOVER, P.R. (1998): The relationship of the number of wetting periods and accumulated degree-days to sporulation of *Guignardia bidwellii* (Ellis) Viala & Ravaz in vineyards. Master's thesis, Pennsylvania State University.
93. NORTHOVER, P.R. (2008): Factors influencing the infection of cultivated grape (*Vitis* spp. Section *Euaitis*) shoot tissue by *Guignardia bidwellii* (Ellis) Viala & Ravaz. Dissertation. The Pennsylvania State University.
94. International Organisation of Vine and Wine (O.I.V.) (2016): www.oiv.int.
95. ONESTI, G., GONZÁLEZ-DOMÍNGUEZ, E., MANSTRETTA, V., ROSSI, V. (2017): Release of *Guignardia bidwellii* ascospores and conidia from overwintered grape berry mummies in the vineyard. *Aust Soc Viticult Oenology*, 1-9. p.
96. PAP D., RIAZ, S., DRY, I. B., JERMAKOW, A., TENSCHER, A. C., CANTU, D., OLÁH R., WALKER, A. (2016): Identification of two novel powdery mildew resistance loci, Ren6 and Ren7, from the wild Chinese grape species *Vitis piasezkii*. *BMC Plant Biol*, 16(1)170. p.
97. RAMMING, D.W., GABLER, F., SMILANICK, J., CADLE-DAVIDSON, M., BARBA, P., MAHANIL, S., CADLE-DAVIDSON, L. (2011): A single dominant locus, *Ren4*, confers rapid non-race-specific resistance to grapevine powdery mildew. *Phytopathology*, 101:502-508. p.
98. RAMSDELL, D.C., MILHOLLAND, R.D. (1989): Black Rot. In: PEARSON G., GOHEEN, A.C. (eds.) *Compendium of Grape Diseases*. St. Paul: APS Press. 15-17.p
99. REDDICK, D. (1911): The black rot disease of grapes. *Cornell University Agricultural Experiment Station Bulletin*, 293:280-364. p.
100. REX, F. (2012): Resistenz gegen die Schwarzfäule (*Guignardia bidwellii*) in der Weinrebe (*Vitis spec.*)-Etablierung phänotypischer Erfassungsmethoden und genetische Kartierung von Resistenzloci. Geilweilerhof, Deutschland, Karlsruher Institut für Technologie Masterarbeit

101. REX, F., FECHTER, I., HAUSMANN, L. (2014): QTL mapping of black rot (*Guignardia bidwellii*) resistance in the grapevine rootstock 'Börner' (*V. riparia* Gm183 x *V. cinerea* Arnold). *Theor Appl Genet*, 127:1667-1677. p.
102. REYNOLDS, A. (eds) (2015): Grapevine Breeding Programs for the Wine Industry. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition: Number 268. UK: Elsevier.
103. RIES, S.M. (1999): Reports on Plant Diseases: Black Rot of Grape. Integrated Pest Management at the Uni. of Illinois. <http://ipm.illinois.edu/diseases/series700/rpd703>
104. RINALDI, P., SKAVENTZOU, M., ROSSI, M., COMPARINI, C., SOFIA, J., MOLITOR, D., MUGNAI, L. (2013): *Guignardia bidwellii*: Epidemiology and symptoms development in Mediterranean environment. *J Plant Pathol*, 95:84. p.
105. ROSSI, V., ONESTI, G., LEGLER, S. E., CAFFI, T. (2014): Use of systems analysis to develop plant disease models based on literature data: grape black-rot as a case-study. *Eur J Plant Pathol*, 141:427–444. p.
106. ROUSSEAU, J., CHANFREAU, S., BONTEMPS, É. (2013): Les Cépages Résistants and Maladies Cryptogamiques. Bordeaux: Groupe ICV, 228. p.
107. ROZNIK D., HOFFMANN S. KOZMA P. (2017): Identification of grapevine accessions highly resistant to *Guignardia bidwellii*, the causal agent of black rot. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 67:149-157. p.
108. SALZMAN, R.A., TIKHONOVA, I., BORDELON, B.P., HASEGAWA, P.M., BRESSAN, R.A. (1998): Coordinate accumulation of antifungal proteins and hexoses constitutes a developmentally controlled defense response during fruit ripening in grape. *Plant Physiol*, 117:465-472. p.
109. SCHÖNBECK, F., SCHLÖSSER, E. (1976): Preformed substances as potential protectants. In: Heitefuss, R., Williams, P.H. (eds.): *Physiological Plant Pathology*. Encyclopedia of Plant Pathology, New Series, Vol. 4. Berlin: Springer, 653-678. p.
110. SCRIBNER, F.L. (1886): Report on the Fungus Diseases of the Grapevine. Washington: Government Printing Office.
111. SHAW, B.D., HOCH, H.C. (1998): The pycnidiospore of *Phyllosticta ampellicida*: surface properties involved in substratum attachment and germination. *Mycol Res*, 103:915-924. p.
112. SHAW, B.D., KUO, K., HOCH, H.C. (1998): Germination and appressorium development of *Phyllosticta ampellicida* pycnidiospores. *Mycologia*, 90(2):258-268. p.
113. SHAW, B.D., HOCH, H.C. (2000): Ca²⁺ Regulation of *Phyllosticta ampellicida* Pycnidiospore germination and Appressorium Formation. *Fungal Genet Biol*, 31:43-53. p.
114. SIVANESAN, A. HOLLIDAY, P. (1981): *Guignardia bidwellii*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. No.710.Wallingford, UK: CAB International
115. SPOTTS, R.A. (1977): Effect of leaf wetness duration and temperature on infectivity of *Guignardia bidwellii* on grape leaves. *Phytopathology*, 67(11):1378–1381. p.
116. SPOTTS, R.A. (1980): Infection of grape by *Guignardia bidwellii* -factors affecting lesion development, conidial dispersal, and conidial populations on leaves. *Phytopathology*, 70(3):252–255. p.
117. SVÁB J. (1973): Biometria módszerek a kutatásban. Mezőgazdasági Kiadó, 517 p.
118. TISCH, C., EIBACH, R., NICK, P., KORTEKAMP, A. (2013): Microscopical investigation of early infection events of *Guignardia bidwellii* on grape cultivars with different levels of resistance and European wild grapes. *J Plant Pathol*, 95:S1.82–S1.83.
119. TOMOIAGA, L., COMSA, M. (2010): The Strategy of Optimization for Combat the Black Rot of Vine. Bulletin UASVM, (Tarnave) In: *Horticulture*, 67(1):500. p.
120. TÓTH-LENCSEŠ A.K., KOZMA P., SZŐKE A., KERÉKES A., VERES A., KISS E. (2015): Parentage analysis in Hungarian grapevine cultivars of 'Seibel', 'Seyve-Villard' origin. *Vitis*, 54(Special Issue):27–29. p.

121. TRAVIS, J., HED, B., MUZA, A. (2005): Control of black rot in organic grape production systems. Research Report to the New York Wine/Grape Foundation, The Grape Production Research Fund and The Viticulture Consortium-East.
122. TRUXALL, D.L. (1995): An environmentally driven model for grape black rot scouting and the Impact of environmental data differences on disease control decision-making. Ph.D Thesis, The Pennsylvania State University. 127. p.
123. ULLRICH, C.I., KLEESPIES, R.G., ENDERS, M., KOCH, E. (2009): Biology of the black rot pathogen, *Guignardia bidwellii*, its development in susceptible leaves of grapevine *Vitis vinifera*. *Journal für Kulturflanzen*, 61:82-90. p.
124. VÁCZY, ZS., VÁCZY, K.Z., SCHMIDT, Á., KISS, L. (2012): A *Guignardia bidwellii* által okozott feketeterothadás magyarországi szőlőültetvényekben. In: 58. Növényvédelmi Tudományos Napok Összefoglalók (2012) (Budapest) 38. p.
125. VAN der Aa, H.A. (1973): Studies in *Phyllosticta* I. Studies in Mycology 5(1):110. p.
126. VIALA, P., RAVAZ, L. (1886): Mémoire sur une nouvelle maladie de la vigne, le Black Rot (pourriture noire). *Annales de l'École National d'Agriculture de Montpellier*, 2:17-58. p.
127. WAN, Y., SCWANINGER, H., HE, P., WANG, Y. (2007): Comparison of resistance to powdery and downy mildew in Chinese wild grapes. *Vitis*, 46:132-136. p.
128. WANG, C.X., ZHANG, Y., LU, J. (2016): Analysis on upstream regulatory sequence of grape stilbene synthase gene family. *Journal of Southern Agriculture*, 47(1):1-6. p.
129. WEIGLE, T. (2017): Managing black-rot (Cornell University: Ithaca, NY, USA) <https://grapesandwine.cals.cornell.edu/newsletters/appellationcornell/2014-newsletters/issue-17/managing-black-rot> [accessed 18/07/17]
130. WICHT, B., PETRINI, O., JERMINI, M., GESSLER, C., BROGGINI, G.A.L. (2012): Molecular, proteomic and morphological characterization of the ascomycete *Guignardia bidwellii*, agent of grape black rot: a polyphasic approach to fungal identification. *Mycologia*, 104(5):1036-1045. p.
131. WILCOX, W. (2003): Black rot (*Guignardia bidwellii* (Ellis) Viala and Ravaz.) in Grapes. Grape Disease Identification sheet, Black Rot, Cornell University Cooperative Extension, http://www.nysipm.cornell.edu/factsheets/grapes/diseases/grape_br.pdf.
132. WILCOX, W., WALTER, G., UYEMOTO, J. (2015): Compendium of Grape Diseases, Disorders and Pests. Second Edition. Minnesota: APS PRESS. 232. p.

9. MELLÉKLETEK

9.1. melléklet A *V. vinifera* szőlő főbb fenológiai növekedési fázisai a BBCH határozó kulcs alapján (LORENZ et al. 1995)

BBCH kód	leírás
07	Rügyfakadás
12	2 kiterült levél – kisleveles állapot
15	5 kiterült levél – rövid hajtás állapot
50	Fürtkezdemények megjelenése
57	Virágzat kifejlődött
61	Virágzás kezdete, a pártasapkák 10 %-a lehullott
73	2-3 mm-es bogyók
75	Borsó nagyságú bogyók, fürtlehajlás
77	Fürtzáródás kezdete
79	Fürtzáródás vége
81	Érés kezdete
89	Szedésérettség

The diagram illustrates the BBCH scale for *Vitis vinifera* phenological stages, showing the progression of growth and development across four rows of illustrations:

- Row 1:** Stages 00 to 55, showing bud break and shoot growth.
- Row 2:** Stages 57 to 68, showing leaf expansion and flowering.
- Row 3:** Stages 71 to 77, showing fruit development and cluster closure.
- Row 4:** Stages 81 to 97, showing ripening and harvest readiness.

9.2. melléklet A PTE SZBKI szőlő génbank fekete-rothadás ellenállóság felmérése szabadföldön, 2012.

Fajta	Kategória	Fajta	Kategória
franko-amerikai hibridek		<i>Vitis amu. x V. vin.</i> hibridek	
SV 18315	3	164-2-5-92-7-2	1
SV 12375	9	13-12-15	7
SV 20473	9	13-12-17	1
SV 23657	9	5-18-6	3
S 7053	9	5-4-6	7
franko-amerikai hibrid x <i>V. vin.</i> hibridek		5-14/5	9
Bianca	7	5-21/1	7
GM7116-26	9	5-18-4	4
GM322-58	9	5-1-5	1
GM318-57	9	5-14/5	9
13-5/17	7	Agatha	1
Medina	7	SK 77 -4/5	9
Regent	3-1	05-4-1/6	7
RF-16	9	Amadeus	3-1
franko-amerikai hibrid x <i>V. vin.</i> x <i>V. amu.</i> hibridek		Petra	7
Panonija	1	<i>M. rot. x V. vin.</i> hibridek	
SK 78 -3/52	3	04-2 család	7
SK 78 -3/57	9	<i>M. rot. x V. vin. x V. amu.</i> hibrid	
10/1	5	01-1/768	7
8/1	3	01-1/852	3-1
Toldi (C. 50)	1	01-1/808	7
Kozmopoliten	9	01-1/797	3-1
Bácska	3-1	01-1/474	3-1
54/2	3-1	01-1/38	3-1
4/2	7	07-6-12/1	9
12-15-2	7	05-1-2/1	7
13-3/6	7	<i>M. rot. x V. vin. x V. amu. x franko-amerikai</i>	
		04-7-29/3	7

(*V. amu.* = *V. amurensis*; *M. rot.* = *M. rotundifolia*; *V. vin.* = *V. vinifera*)

9.3. melléklet A tesztelt szőlő fajták és hibridek listája, azok ismert pedigréjének megadásával.

Fajta/ Genotípus neve	Ismert pedigré	
S 7053	Seibel 5163	Seibel 880
SV 5276	Seibel 5656	Seibel 4986
SV 12286	Seibel 6468	Seibel 6905
SV 12303		
SV 12358		
SV 12364		
SV 12375		
SV 12390		
SV 18315	S 7053	S 6905
SV 20365	<i>V. vinifera</i> cv. Pansa	SV 12375
SV 20473	SV12129	<i>V. vinifera</i> cv Pansa
SV 23657	SV12129	<i>V. vinifera</i> cv Pansa
Vértes csillaga	SV 12286	Medoc noir
Ecs 3	SV 12286	Medoc noir
Ecs 5	SV 12303	Medoc noir
Ecs 9	Couderc 503	Medoc noir
Ecs 16	Ottonel muskotály	SV 12375
Ecs 18	Ottonel muskotály	SV 12375
Ecs 20	Ottonel muskotály	SV 12375
Ecs 22	Olaszrizling	SV 12375
Zalagyöngye	SV 12358	Csaba gyöngye
Ecs 26	Ottonel muskotály	SV 12375
Lakhegyi mézes	Mézes fehér	SV 12375
Ecs 32	SV 12303	Medoc noir
Göcseji zamatos	Medoc noir	SV12286
Zalán	Medoc noir	SV12375
Ecs 38	SV 12375	Bouvier
Bianca	SV 12375	Bouvier
Ecs 42	SV12286	Medoc noir
Ecs 44	SV 12375	Bouvier
Ecs 46	SV 12375	Bouvier
Ecs 48	SV 12375	Bouvier
Isaura	SV 12375	Muscat ottonel
Néró	SV 12375	Gárdonyi Géza
Suzy	SV 12375	Pannónia kincse
E 313	SV 12375	Perlette
E 338		
E 352		
E 411		

9.3. melléklet folytatása

Fajta/ Genotípus neve	Ismert pedigré	
E 344	SV 12375	Perlette
E 345		
E 346		
E 350		
Teréz	SV 12375	Olimpia
Esther	SV 12375	Magaracsi korai
V25/20	SV 12375	Pleven
Moldova	SV 12375	Guzal kara
MM2	SV 12375	Aleatiko
MM20	S 13666	Merlot
MM21	SV 12375	Tramini
MM25	SV 18315	Muscat armjanszkij
MM27	SV 12375	Pinot gris
MM31	SV 12375	Tramini
MM32	Pervomajszkij	S 7053
MM44	SV 12375	Tramini
MM42	SV 12375	Korai piros veltelini
MM55	SV 23657	Korai piros veltelini
MM57	SV 12375	Tramini
MM58	SV 12309	Fehér muskotály
Viktória gyöngye	SV 12375	Csaba gyöngye
Csillám	SV 12375	Csaba gyöngye
Felicia	Vidal blanc	Bacchus x SV 12375
Villaris	Sirius (Bacchus x SV12375)	SV12375
Regent	Diana (Zöldszilváni x Müller Thurgau)	Chambourchin (J.S.26205)
Reberger	Regent	Kékfrankos
Calandro	Domina	Diana x Joannes Seyve 26205
Merzling	SV 5276	Rajnai rizling x Pinot gris
Fr. 13-12-10	SV 12481	Tramini
GM318-57	S 7053	Rajnai rizling klón
GM322 58	S 7053	(Rajnai rizling klón 239) F2
GM78-10-8		
Malverina	SV 12375 x Korai piros veltelini	S 13666 x Merlot
13-5/17	Cserszegi fűszeres x Bianca	SV 12375 x Bouvier
Kabera	<i>V. amurensis</i>	Cabernet sauvignon
5-4-6	<i>V. amurensis</i> x Tramini	<i>V. amurensis</i> x Rajnai
5-10-6		
5-11-2		
5-11-6		

9.3. melléklet folytatása

Fajta/ Genotípus neve	Ismert pedigré	
5-14-5	<i>V. amurensis</i> x Tramini	<i>V. amurensis</i> x Rajnai
5-16-3		
5-21-1		
5-23-5		
15-7-1		
15-8-3		
15-10-1		
15-11-6		
Kunbarát	<i>V. vinifera</i> cv. Italia	A 28/19
Petra	Kunbarát	Pinot noir
Toldi (C50)	Alföld 100	SV 12375
EB13	Nero (SV 12375 x Gárdonyi G.)	Fioletovűj ránnűj
Jázmin	SK77-4/5 (Kunbarát x Tramini)	Bianca
4/2	SK77-4/5 (Kunbarát x Tramini)	Bianca
20/3	Petra (Kunbarát x Pinot noir)	Bianca
39/1	SV12375 x Tramini	SK77-5/3 (Kunbarát x Pinot noir)
54/2	SK77-4/5 (Kunbarát x Tramini)	Bianca
13-3/6	Göcseji zamatos	Muscat usztojesivűj
Panonija	SK77-4/5 (Kunbarát x Tramini) x Bianca	Rajnai rizling
Jaquez	<i>V. aestivalis</i>	<i>V. vinifera</i> F1
05-4-1/6	Kunbarát	Kismis vatkana
01-1-768	<i>M. rotundifolia</i> BC4	Petra
01-1-808		
07-6-1/2	<i>M. rotundifolia</i> BC4 x Petra	Pinot noir
07-6-12/1		
99-1-48	<i>M. rotundifolia</i> BC4	Panonija
05-2-31/5	99-1-48	Tramini
04-7-29/3	99-1-48	Pinot noir
Kahet	<i>Vitis</i> sp.	
Kismis vatkana	<i>Vitis</i> sp.	
Börner	<i>V. riparia</i> Gm183	<i>Vitis cinerea</i>
<i>M. rotundifolia</i>	<i>M. rotundifolia</i>	

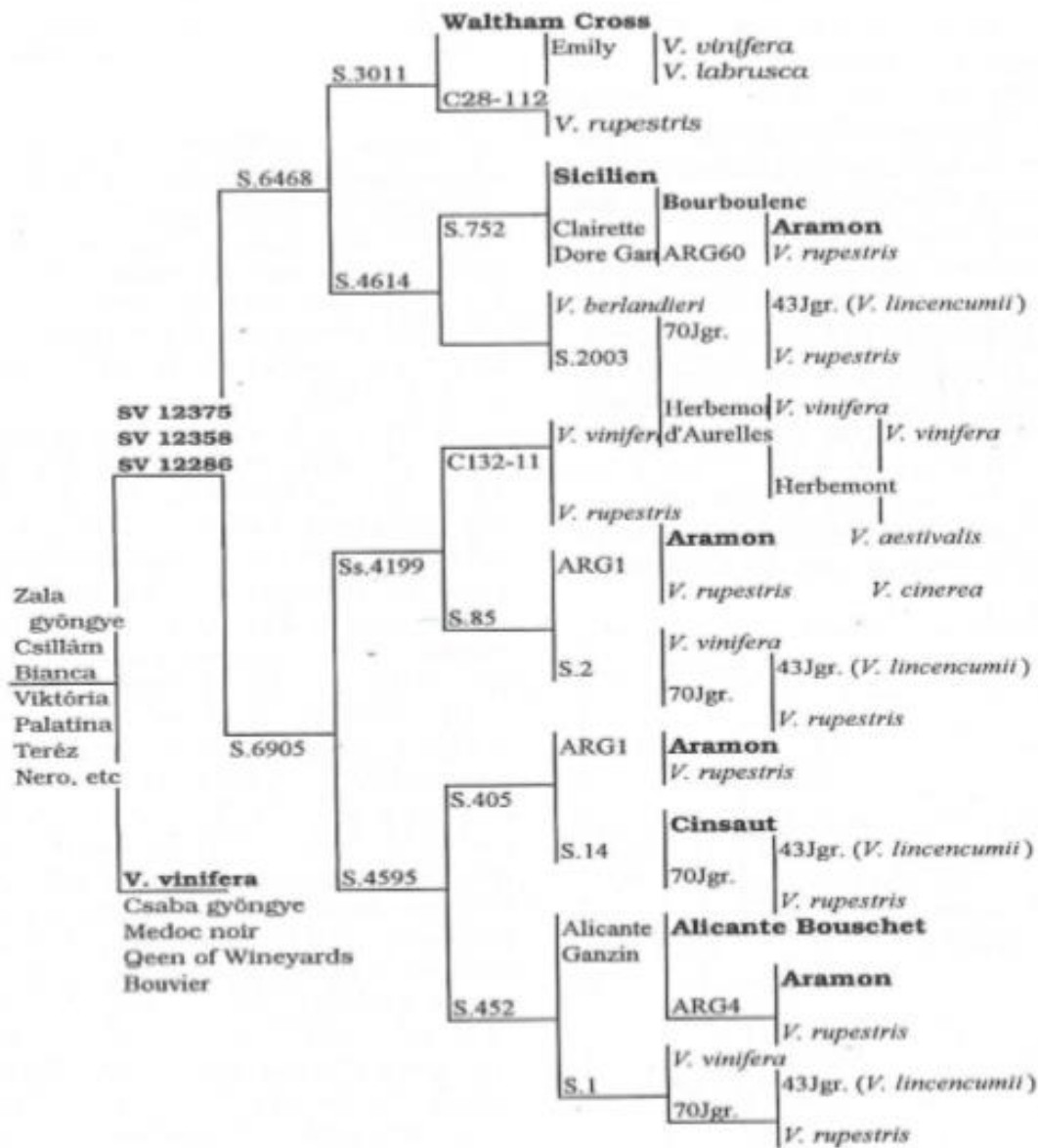
9.4. melléklet A *Guignardia bidwellii* izolátumok molekuláris fajszerű azonosításakor a BLAST kereső programhoz felhasznált LSU szekvencia

AAAAGCACTTTGGAAAGAGAGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGCTTGCAACCAGACTCGCTC
GCAGTTGCTCAGCCGGCCTCTTGCCGGTGTACTCTTCTGCGATCGGGCCAGCATCGGTTCTGGGCGGCCGGATAA
AGGCGTCGGGAATGTAGCACCTTCGGGGTGTGTTATAGCCCGGCGCGGAATGCGGCCAGCCTGGACCGAGGAT
CTCGCTTCGGCAAGGATGCTGGCGTAATGGTTGTAAGCGGCCCGTCTTGAAACACGGACCAAGGAGTCTAACATC
TATGCGAGTGTTTGGGTGTCAAACCCATGCGCGTAATGAAAGTGAACGGAGGTGGGAACCCCTCGCGGGGCGCA
CCATCGACCGATCCTGATGTCTTCGGATGGATTTGAGTAAGAGCATAGCTGTTGGGACCCGAAAGATGGTGAAC
ATGCCTGAATAGGGTGAAGCCAGAGGAACTCTGGTGGAGGCTCGCAGCGGTTCTGACGTGCAAATCGATCGTC
AAATTTGGGTA

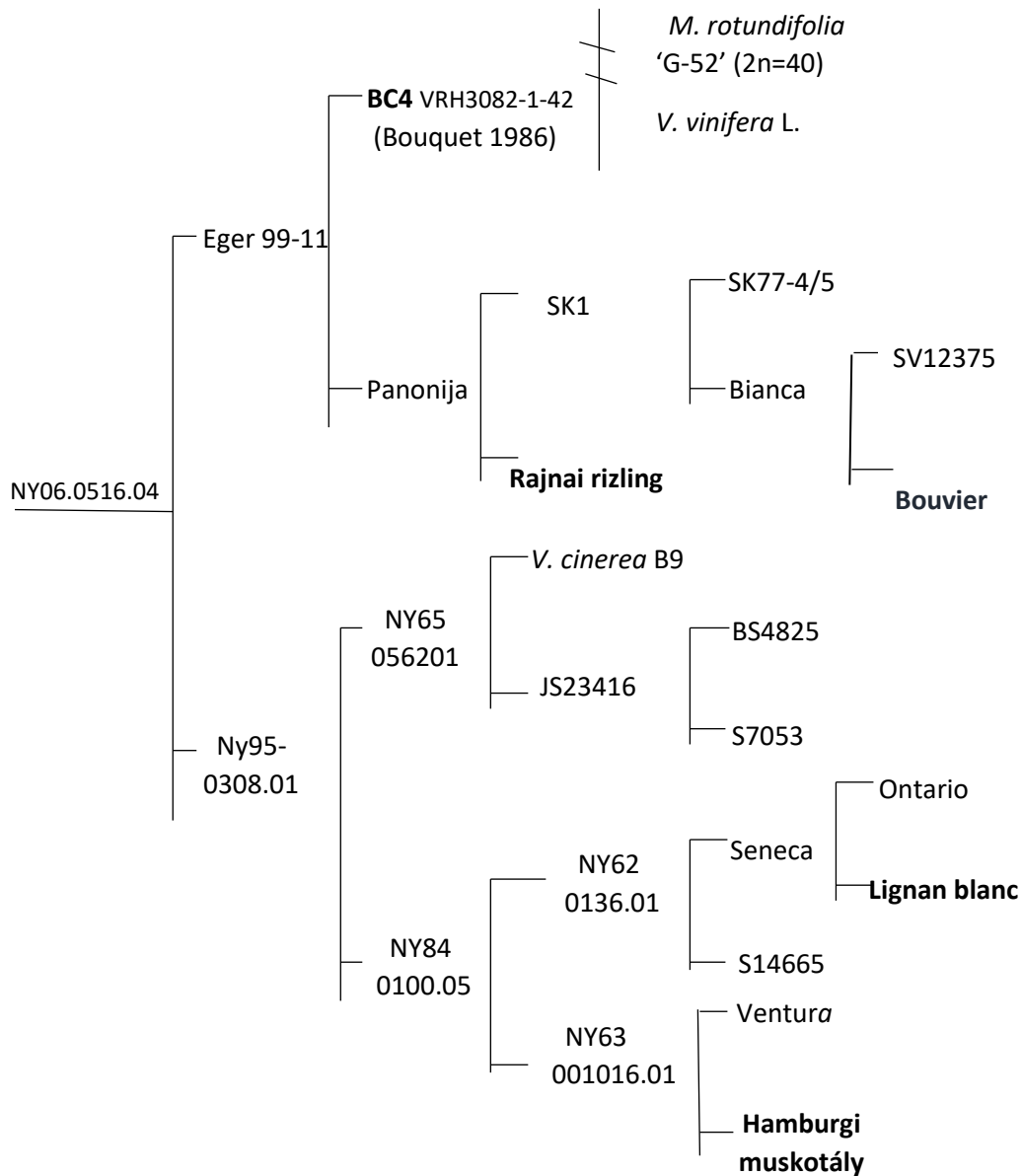
9.5. melléklet Filogenetikai fa, a vizsgált *G. bidwellii* szekvenciával homológiát mutató szekvenciával, az www.ncbi.nlm.nih.gov weboldal BLAST funkciójával készítve. (a mintánk pozícióját az lclQuery_106581 jelöli az ábrán sárgával kiemelve)



9.6. melléklet Egyes franko-amerikai interspecifikus rezisztens fajták családfája. (Csak a vastagon szedett fajtanevek *V. vinifera* fajták.)



9.7 melléklet A NY06.0516.04-es számú Genevai hibrid családfája. A **11-19**-es család a NY06.0516.04 szabadbeporzásából származik. (vastagon szedve a *V. vinifera* fajtákat emeltem ki)



10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném megköszönni témavezetőmnek, Dr. Kozma Pálnak a munkámhoz nyújtott segítségét és szakmai irányítását. Köszönöm, hogy 2012-től bekapcsolódhattam a PTE Szőlészeti és Borászati Kutatóintézetének nemesítési programjaiba és a kutatói csapatba. Külön köszönöm ezen új keletű kutatási téma megfogalmazását, és a jövőtelem előtt készített számos növényanyag rendelkezésemre bocsátását. Köszönöm továbbá mind a kísérleteim tervezésekor, mind a kiértékelésükben nyújtott értékes segítséget.

Köszönettel tartozom Dr. Hoffmann Saroltának a PTE Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet tudományos munkatársának, az együtt végzett mesterséges tesztelések kivitelezésében és megtervezésében nyújtott segítségéért. Külön köszönet a témát érintő publikációk előkészítését és megfogalmazását segítő munkájáért.

Köszönet illeti Dr. Jakab Gábort, a PTE Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet igazgatóját, hogy biztosította számomra a disszertáció elkészítéséhez szükséges körülményeket.

Köszönettel tartozom a Károly Róbert Főiskola, Szőlészeti és Borászati Intézetének tudományos munkatársainak a *G. bidwellii* kórokozó fenntartásával kapcsolatban adott értékes tanácsaikért, valamint a gomba molekuláris azonosításának elvégzéséért.

Köszönöm Dr. Oláh Róbertnek, dolgozatom társtémavezetőjének és Dr. Szegedi Ernőnek a NAIK SZBKI Kecskeméti Intézetének munkatársainak, hogy fogadtak laboratóriumukban és szakmai tapasztalataikkal segítették az *in vitro* munkákban való elmélyülésemet.

Köszönöm továbbá Szabó Andor, Kozma Krisztián, Szentei Gábor, Varga Zita és Tóth Lászlóné kollégáim munkáját, akik a növényekkel végzett technikai feladatokban részt vettek.

Köszönettel tartozom Dr. Csikászné dr. Krizsics Anna, Gaál Krisztián, Dr. Teszlák Péter, Hevér László kollégáimnak a munkámhoz nyújtott sok szakmai és gyakorlati segítségért. Valamint a Kutatóintézet minden dolgozójának, aki hozzájárult munkám elvégzéséhez.

A kutatómunka gazdasági feltételeit az INNOVINE (FP7-KBBE-2012-6-311775) projekt keretéből finanszíroztuk.