



SZENT ISTVÁN
EGYETEM

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

Doktori értekezés tézisei

Roznik Dóra

Budapest

2019

A doktori iskola

megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola

Tudományága: Kertészeti Biológia

Vezetője: Zámboriné Dr. Németh Éva

Egyetemi tanár, DSc

Tanszékvezető, SZIE, Kertészettudományi Kar,

Gyógy- és Aromanövények Tanszék

Témavezető : Dr. Kozma Pál

Osztályvezető, tudományos főmunkatárs, PhD

PTE-SZBKI, Pécs

Társ témavezető: Dr. Oláh Róbert

Tudományos főmunkatárs, PhD

NAIK SZBKI, Kecskemét

A jelölt a Szent István Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhely vitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, azért az értekezés védési eljárásra bocsájtható.

.....
Zámboriné Dr. Németh Éva
Iskolavezető

.....
Dr. Kozma Pál
Témavezető

1. A munka előzményei, a kitűzött célok

A szőlő feketerothadását az aszkospórás *Guignardia bidwellii* (Ellis) Viala *et* Ravaz van der Aa) Észak-amerikai gomba okozza. A kórokozó a XIX. század végén került be Európába, de csak a 2000-es évek óta jelent súlyosabb problémát Európa-szerte a vegyszerhasználat mérséklését célzó törekvések miatt. Magyarországon növényvédelmi szempontból egészen a 2010. évi járványos fellépéséig azonban nem kellett számolni a kórokozóval. A feketerothadás súlyos kártételének okai: a lisztharmat és peronoszpóra kórokozókkal szemben rezisztens fajták termesztése vegyszeres kezelés nélkül, az alternatív növényvédelmi technológiák alkalmazása, illetve a klímaváltozás hatására gyakrabban előforduló meleg és párás periódusok a vegetáció során, ami a kórokozó számára kedvező időjárási körülményt biztosít. A műveletlenül hagyott területek rezervoárként szolgálnak az inokulum felhalmozódásához és hozzájárulhatnak a járványok kialakulásához.

Gazdasági jelentőségét növeli, hogy a gomba a szőlő minden növekvésben levő zöld részét képes megfertőzni, járványos években pedig a termés 80-100%-át elpusztíthatja. Ellene jelenleg hatékonyan növényvédőszeres használatával lehet védekezni. A kijuttatott nagy mennyiségű vegyszer hatalmas terhelést jelent a környezetre, ártalmas az ember egészségére és nagy a költségigénye. A fenntartható szőlőtermesztés szempontjából a legígéretesebb megközelítés a rezisztens fajták előállítása és termesztésbe vonása.

A Pécsi Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet a 2000-es évek óta foglalkozik lisztharmattal és peronoszpórával szemben magas fokon ellenálló és versenyképes minőséggel rendelkező szőlőfajták nemesítésével. Az előállított új fajtajelöltek és fajták azonban nagymértékben fogékonyak a feketerothadásra szemben. A Kutatóintézet új nemesítési programjában a feketerothadás gomba elleni ellenállóképesség beépítését célozta meg a rezisztens fajtákba, hogy megalapozza a kémiai növényvédelem nélküli minőségi szőlőtermesztést. Dolgozatomban 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 feketerothadással szembeni ellenálló-képességének 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. Anyag és módszer

2.1. *Guignardia bidwellii* in vitro nevelése és azonosítása

A kísérletekhez a *G. bidwellii* feketerothadást okozó patogén gomba szabadföldről begyűjtött, majd MOLITOR (2009) módszere alapján izolált vonalait, tenyészeteit használtuk. A feketerothadással fertőzött növényi részek begyűjtésére az egri és pécsi szőlészeti kutatóintézetek szőlőültetvényeiben került sor 2011 és 2014 között. A kórokozó izolátumait 90 mm-es Petri-csészében *in vitro* tartottuk fent ½ PDA és zabliszt táptalajon JAILLOUX (1992) módszere szerint, állandó fluoreszcens megvilágítással.

A növekvő gomba micéliumokat morfológiai bélyegeik alapján azonosítottuk. 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 spórák leszűreteléséhez az átoltást követő 14-16 napos tenyészeteket használtuk, majd Bürker kamrával a spóra szuszpenziót 10^4 - 10^5 spóra/ml töménységűre állítottuk be a fertőzésekhez.

2.2. Táptalaj kísérletek beállítása *G. bidwellii* in vitro neveléséhez és spóraszuszpenzió előállításához

A spórákhozatal mind időben, mind mennyiségben való fokozásához táptalajkísérletet állítottunk be. A kísérletben a *G. bidwellii* szilárd táptalajon való növekedését három különböző alaptáptalajon (1/2 burgonya dextróz, zabkivonat és maláta kivonat) és azok 5 illetve 10 V/V% szőlőmusttal kiegészített változatain vizsgáltuk 5 ismétlésben. 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. A három alaptáptalajon és azok 10% mustot tartalmazó változatain jegyeztük fel a sporuláció kezdeti időpontját és mértékét. A sporuláció intenzitását egy 4 kategóriából álló skálába soroltuk be, az alapján, hogy a képződött piknidiumok hány százaléka sporulál egyszerre.

2.3. Kísérleti Növényanyag

A rezisztenciaforrás kereséséhez a PTE SZBKI génbankjából 168 változatos genetikai háttérrel rendelkező szőlőfajtából és hibridből készült gyökeres dugvány a vizsgálatokhoz. Tesztelésekhez korábbi irodalmi források és Pécssett szabadföldön 2012-ben végzett felvételezések alapján dugvány készült 12 db Seibel, Seyve-Villard hibridből, valamint ezeknek európai nemesítési programok visszakeresztéseiből származó 61 fajtájából. Továbbá kiválasztottunk még 26 db magyar nemesítésű *V. amurensis* x *V. vinifera* F2, BC1 és BC2 hibridet, 2 db közép-ázsiai *V. vinifera* fajtát, további 7 db pécsi -több *Vitis* fajt ötvöző komplex BC5, BC6 hibridet-, valamint 57 db Grúziából származó *V. vinifera subconv. georgica* fajtát. Kontrollként a rezisztens 'Börner' (*V. riparia* x *V. cinerea*) alanyfajta és *M. rotundifolia* magoncaiból készített dugványok, míg fogékony kontrollként termesztésben elterjedt *V. vinifera* 'Furmint' fajtát használtuk.

A rezisztencia öröklődésének vizsgálatát, valamint nemesítési alapanyag keresését a Cornell Egyetem, Genevai Génbankból kiválasztott, irodalmi adatok alapján magas fokon Black rot (BR) rezisztens hibridekkel létrehozott magonccsaládokra terveztük. Ezt a kört egészítettük ki a mesterséges tesztelések alapján kiválasztott 'Csillám' fajtaival készült utódpopulációval. A feketerothadás mesterséges fertőzésekhez használt hibridcsaládokat és származásukat az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat Feketerothadás rezisztencia vizsgálatára létrehozott hibridcsaládok

család jelzése	család származása	egyed szám
12-14	BR5 (<i>V. cinerea</i> '6524-219' x <i>V. vinifera</i> 'Tannat') öntermékenyítése	550
12-15	BR 10-es számú (<i>V. berlandieri</i> x <i>V. vinifera</i> cv 'Fresno' 58-22) öntermékenyítése	56
11-19	NY06.0516.04 szabadbeporzásával	50
11-20	BR16 (<i>V. rupestris</i> 65-43 x Galibert 114-11) x Chardonnay	58
15-4	SK 00-1/7 (<i>M. rotundifolia</i> x <i>V. vinifera</i> BC4) x 'Panonija') x Csillám	126

2.4. Fertőzési kísérletek

A feketerothadás levél-, bogyó-, fűrtfertőzési kísérleteket klímaszobában és szabadföldön állítottunk be 2013 és 2018 között, évente több alkalommal. A szőlő fertőzéseskor fenológiai állapotának pontos megjelöléséhez a BBCH skálát alkalmaztuk. A fertőzéseket egy arra kialakított klímaszobában végeztük. A beállított koncentrációjú gomba inokulumot az előre benedvesített 4-6 leveles intenzíven növekvő kiterült levelekre, 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 mellett neveltük azokat az értékelésükig. A hőmérsékletet 24-27 °C között tartottuk. Genotípusonként 3 ismétlésben végeztük a fertőzéseket. A 'Csillám' fajta szabadföldi mesterséges fűrtfertőzését 2017 nyarán az SZBKI Máriai Telephelyén található 45-ös permetezetlen táblában végeztük. Az SZBKI Szentmiklós-hegyi Kísérleti Telep A4-es permetezetlen tábláját választottuk ki a feketerothadás tesztelőkert kialakításához. Ide a korábbi években ellenállónak értékelt fajtákat, hibrideket oltották át meglévő tőkékre feketerothadásra fogékony komplex hibridek közé. A bonitálást 2017-2018 nyarán több időpontban megismételtük.

2.5. Fertőzési kísérletek értékelése

A tesztelések kiértékelését a leveleken a fertőzést követő 21. napon végeztük egy nemzetközileg is elfogadott 5 fokozatú skálán, amit a megjelenő foltok sűrűségével, méretével és a piknidiumok megjelenésével jellemeztük a VIVC skála szerint: (<http://www.vivc.de/resistances/Guignardia-bidwellii-Blatt.pdf>).

A bogyókon a betegség tüneteit 21. napon értékeltük először, ezt követően hetente felmértük a változásokat a fűrtök teljes éréséig. A bogyók értékelésénél egy általunk felállított bonitálási rendszert használtunk, mely alapján négy kategóriába soroltuk a fajtákat (ROZNIK et al. 2017).

2.6. Mesterséges fertőzések statisztikai értékeléséhez használt módszerek

A levél- és fűrtellenállóság eredmények közötti kapcsolat meghatározásához az IBM SPSS statisztikai program Pearson féle korrelációs számítást használtuk. A fekete rothadás rezisztencia öröklődésének illesztés vizsgálatát a χ^2 próbával végeztük, ahogy a kritikus érték χ^2 táblázathoz tartozó érték meghatározását is SVÁB 1973 által leírtaknak megfelelően alkalmaztuk.

3. Eredmények és értékelésük

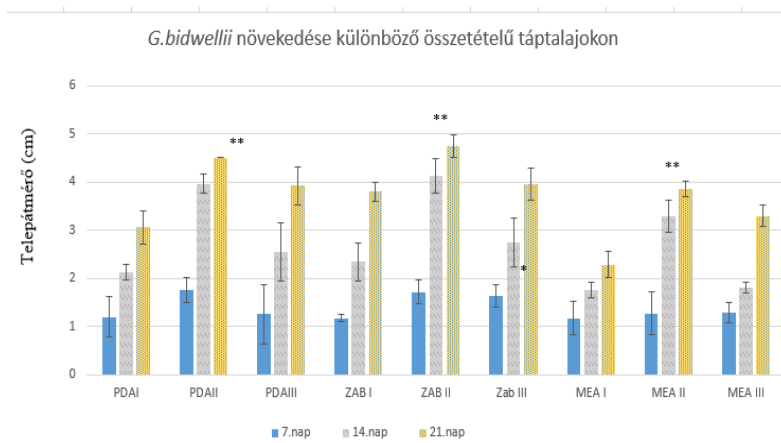
3.1. *G. bidwellii* in vitro fenntartásának és a táptalajkísérletek eredményei

A több időpontban és helyszínen begyűjtött fertőzött szőlőlevelekről indított izolátumok mindegyike egységesen növekedett az adott táptalajon, és morfológiailag is megegyeztek a korábbi irodalmakban szereplő leírásokkal és a referenciaként Svájc-ból rendelt DSMZ génbankjából kapott *G. bidwellii* in vitro nevelt telepeivel.

A négyéves teszt sorozatok során két alkalommal ellenőriztük vissza molekuláris azonosítással a fertőzésekhez felhasznált gomba izolátumainkat. Az azonosítások során az izolátumokból nyert rDNS szekvenciák a legnagyobb egyezést a nemzetközi génbank adatbázisban található *G. bidwellii* (CBS 237.48) szekvenciákkal mutatták.

A táptalaj kísérletek során az alaptáptalajok szolgáltak kontrollként, ezekhez képest mértük valamennyi alaptáptalajnak az 5 V/V% és 10 V/V% szőlőmustot tartalmazó változatainak a gombatelepek növekedését. Az 5 térfogatszázalékban mustot tartalmazó táptalajokon (PDAIII, ZABIII, MEAIII) a kontroll alap táptalajhoz (PDAI, ZABI, PDAI) viszonyítva nem volt megfigyelhető szignifikánsan nagyobb telepek fejlődése ($p > 0,05$), csak kismértékben fokozta a micélium növekedést. A micélium növekedésének intenzitását figyelembe véve, a statisztikai elemzés alapján leggyorsabb növekedést a 10 V/V% szőlőmusttal kiegészített táptalajokon figyeltük meg, itt minden esetben a kontroll táptalajhoz képest szignifikáns különbséget találtunk (1. ábra). A legkorábban az inokulációt követő 7. napon a 10% mustot tartalmazó

zabliszt (ZABII) táptalajon növekvő telepek piknídiumai kezdték meg a sporulációt, ezt követte a többi típusú táptalaj a 10. naptól. A 14. napig csak a maláta alapú táptalaj (MEAI) és 10% mustot tartalmazó változata (MEAI) esetén nem (vagy csak egyes esetekben) figyeltünk meg sporulációt. A legintenzívebb és az egész telep felületén megfigyelhető spóra kiáramlást a ZABII táptalajon tapasztaltuk. Ezeken a 14. és a 21. napon minden ismételtsben a sporuláció mértéke intenzív vagy jó volt.



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

3.2. Rezisztencia forráskeresés eredményei

Származásuk szerint csoportosítva értékeltük a mesterséges fertőzések eredményeit. A franko-amerikai hibridek és származékaik közül a tesztelések során a 'Csillám' és a 'Chancellor' ('S7053') fajták lombja mutatott tünetmentességet (9-es kategória). Kiemelkedő lombrezisztenciájú volt még 'Seyval blanc' ('SV5276'), mely minden fertőzésre magas fokú ellenállóságot (7-9-es kategória) mutatott. Ebben a csoportban közepesen ellenállónak (5-8-as kategória) találtuk a 'Merzling', 'Felicia', 'Villard blanc', 'Teréz', 'GM318-57' és 'Villard noir' fajtákat. A franko-amerikai hibridek jelentős része azonban egyöntetűen fogékonyak, nagyon fogékonyak (1-3-as kategória) bizonyult. A *Vitis amurensis* x *V. vinifera* F2 hibridek közül két genotípus

(‘5-11-2’, ‘5-10-6’) mutatott magas fokú levél rezisztenciát, egy (‘5-11-6’) közepes, míg a többi egyértelműen a fogékony kategóriába került. A rezisztencia nemesítési programunkban eddig előállított komplex hibridek és a Grúziából származó 57 vizsgált *V. vinifera* eredetű fajta az 1-3 kategóriába kerültek, két grúziai fajta kivételével: a ‘Muradouli’ és ‘Odjaleshi’ közepes szintű ellenállóságot (4-6-os kategória) mutatott. Az ismerten magas fokú (9-es fokozat) rezisztens, ezért kontrollnak használt ‘Börner’ alanyfajta és *M. muscadinia* magoncok szintén tünetmentesnek bizonyultak. A fogékony kontrollként használt *V. vinifera* ‘Furmint’ fajtán nagyon súlyos, az egész levelet borító tünetek jelentek meg.

2016-ban 22 fajta fürtfertőzését végeztük el, hogy megállapítsuk a fürt- és levél ellenállóság korrelációját. 2017-ben megismételtük a fürtfertőzéseket 4 időpontban a virágzás és a zsendülés között, hogy ellenállóságuk pontos fokát is meghatározhatjuk. A kísérlet során azt tapasztaltuk, hogy a ‘Csillám’ fajta mind a négy bogyófejlettségi (fenofázisban) stádiumban megtartotta kiemelkedő rezisztenciáját, sőt ezek közül háromnál teljesen tünetmentesek maradtak a fürtök teljes éréskor is. A ‘Seyval blanc’ mind a négy fürtfertőzési időpontban magas fokú rezisztenciát mutatott. A bogyók bőrszövetén kialakultak az eddig csak *Muscadinia rotundifolia* fajon tapasztalt tünetek, mikor a feketerothadás kisebb kiterjedésű felszíni szövetelhalási foltokban jelentkeznek, kevés, de a *G. bidwellii* gombára jellemző piknidium fejlődése mellett. A foltok leváltak az érés folyamán, a gomba nem tudott behatolni a mélyebb szövetekbe, ezért rohadás nem történt. Ezt a tünettípust kaptuk még 2016-ban a ‘Merzling’, ‘5-11-2’, ‘5-10-6’ és az ‘5-11-6’ genotípusok esetében. Azonban a 2017-ben több fenológiai fázisban végzett fürtfertőzésekkor az utóbbi négy fajtánál megfigyelhető volt egy rövid fogékony stádium a virágzás után közvetlenül, ilyenkor a bogyók 5-15%-os arányban megfertőződtek, majd elrohadtak. A későbbi fürtfertőzési időpontokban tünetmentes ellenállóságot vagy a korábban megfigyelt felszíni lehámló foltokat tapasztaltuk. A közepes lombrezisztenciát mutató hibrideknél a fürtfertőzések során nem tapasztaltunk ellenállóságot, a bogyók fajtától és fejlettségtől függően különböző százalékban rohadtak el, ezért a közepesen fogékony illetve nagyon fogékony kategóriába soroltuk őket. Gyenge korrelációt tapasztaltunk a ‘Chancellor’ fajtánál, ahol a tünetmentes lombrezisztencia

ellenére nagymértékű bogyórothadás jelentkezett, a fürt 50-90%-át elpusztítva. A kontroll 'Furmint' fürtjei nagyon fogékonyak voltak.

A 'Csillám' fajtával szabadföldi termő ültetvényében végzett mesterséges fürtfertőzési kísérletben azt tapasztaltuk, hogy a nagy koncentrációban jelen lévő *G. bidwellii* konídiumok ellenére a fürtök minden esetben szüretelhető állapotban tudtak beérni. Volt ugyan két fenofázisa (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' fürtök egészséges állapotban beértek, szüretelhetőek voltak, mely eredmények megerősítik a klímazobás kísérletekben kapott rezisztencia értékeket, ezáltal a 'Csillám' fajta kiváló feketerothadás ellenállóságát.

A mesterséges fertőzési kísérleteket 2017-től kiegészítő szabadföldi megfigyelések az SZBKI Szentmiklós-hegyi Kísérleti Telepének feketerothadás tesztelő kertjében végzett megfigyeléseink során a nagymértékű természetes feketerothadás nyomás alatt tapasztalt tünetek megegyeztek a klímazobában kapott tünetek erősségével és mértékével.

3.3. Feketerothadás rezisztencia tesztelések eredményei a hibridcsaládokban

A feketerothadás rezisztencia öröklődésének megfigyelését elsődlegesen a **12-14-es** és **12-15-ös** családokon terveztük elvégezni. A 2015-2017 közötti klímazobában történt levélfertőzések értékelésénél a **12-14-es** családnál túlnyomóan fogékony növényeket kaptunk. A bonitálás során 15 egyednél találtunk magasabb fokú feketerothadás ellenállóságot (6-9-es kategória) és 29 magoncnál figyeltük meg egy mérsékelt fokát a rezisztenciának (4-6 kategória), a többi fertőzött magonc fogékonyt (1-3 kategória) mutatott a feketerothadással szemben. Ez felvetette a kérdést, hogy a rezisztenciáért felelős szülők valóban ellenállóak-e a feketerothadással szemben. Ennek ellenőrzésére kértük meg Genevából az eredeti szülőket, melyek tesztelése 2017-ben igazolta feltevéseinket, ugyanis a **BR5-ös** hibriden, mint a **12-14-es** család öntermékenyített szülőjén, a mesterséges levélfertőzéskor 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 rezisztenciagén vizsgálatára. Szintén alkalmatlannak találtuk a **12-15**-ös magonc családot a molekuláris munkákhoz, mivel a 2015-2016-ban tesztelt 56 magonc 100%-án erős feketerothadás tüneteket kaptunk a mesterséges levélfertőzések értékelésekor. Az egész populáció egyöntetűen fogékonyt mutatott mindkét tesztben, hasonlóan a család szülőjéhez, a **BR10**-es hibridhez, melyet szintén fogékonyt találtunk. A **11-20**-as család mesterséges tesztelése során célunk feketerothadás ellenálló alapanyag felkutatása volt a nemesítési programunkhoz. A hároméves klímaszobás tesztelésekkor a családban nagy számban találtunk tünetmentesen rezisztens egyedeket, következetesen 23 egyednél figyeltünk meg magas szintű (7-9-es kategória) feketerothadás ellenállóságot, melyek szabadföldi körülmények között is bizonyították lomb- és fűrtellenállóságukat. További pozitívuma a családnak, hogy a 'Chardonnay' visszakeresztezésből származó családból több értékes, *V. vinifera* habitusban és minőségben közelálló hibridet kiemeltünk, melyek minőségre is kiemelkedtek. A **11-19**-es család 2015-2016-ban tesztelt egyedeinél csak 6 ellenállósággal rendelkező egyedet emeltünk ki, a többinél erős feketerothadás fertőzöttséget figyeltünk meg. A család egyedei erőteljes növekedésűek voltak ugyan, de ellenállóságuk mértéke nem érte el azt a szintet, hogy a továbbiakban érdemes legyen foglalkozni ezzel a kombinációval.

A **15-4**-es család a feketerothadás rezisztenciagén öröklődésének vizsgálatához készült. 2015-re a 'Csillám' már bizonyította kiemelkedő, tünetmentes ellenállóságát. A tesztelt 126 magonc közül 49 db volt tünetmentesen rezisztens, míg további 11 egyed mutatott mérsékelt ellenállóságot, a többi 66 magonc fogékony volt. A bonitálási értékek alapján elvégzett (χ^2) khi négyzet teszt eredménye 0,28, ami 0,05 szignifikancia szinten igazolja, hogy az ellenállósággal rendelkező és a fogékony magoncok aránya 1:1 az első évi vizsgálatok alapján.

3.4. Új tudományos eredmények

1. *G. bidwellii in vitro* tenyésztéséhez kidolgoztunk egy hatékonyabb táptalaj kombinációt. A 10% mustot tartalmazó zabliszt táptalajon a gombatelepek növekedése szignifikánsan nagyobb volt az eddig alkalmazott táptalajokhoz képest, továbbá fokozza a gombatelepek sporulációját.

2. Elsőként írtuk le a bogyók felszínén megjelenő, majd az érés során leváló feketerothadás foltok megjelenését nem *Muscadinia rotundifolia* szőlőfajtákon. A bogyók belső szövetei nem roncsolódnak, a fűrtök épek maradnak, ami egy magas fokú rezisztencia működésének tulajdonítható.

3. A szőlőfajták feketerothadás lomb- és fűrtrezisztenciája 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 fűrtrezisztenciája 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 rezisztenciagén térképezésére.

4. Következtetések és javaslatok

A 2014 és 2015 között elvégzett *G. bidwellii* *in vitro* tenyésztésével foglalkozó kísérleteink bizonyították a kórokozó sikeres visszaizolálását feketerothadással fertőzött tünetes levelekből, amiket telep morfológiái és molekuláris ellenőrzésével is alátámasztottunk. A gombával végzett *in vitro* táptalajkísérletek során 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. Legintenzívebb sporulációt a 10% szőlőmustos zabliszt (ZABII) táptalajokon mértük, melyek esetében a statisztikai elemzés igazolta a *G. bidwellii* legintenzívebb fejlődését. Ez a táptalajtípus kiválóan alkalmas a pécsi körülmények között a *G. bidwellii* gomba tenyésztéséhez, hogy a kellő időben a megfelelő mennyiségű és minőségű konídium kinyerhető legyen a mesterséges fertőzésekhez.

A mesterséges lomb- és fürtfertőzések eredményeinek összevetésekor azt tapasztaltuk, hogy a lombon és a fürtökön megjelenő tünetek között nincs minden esetben összefüggés. A korreláció számítás eredményei igazolták, hogy nincs szoros kapcsolat a lomb- és fürtfertőzések eredményei között. A rezisztencianemesítés számára megfelelő genetikai rezisztenciaforrások kiválasztásához nélkülözhetetlen a fürtök mesterséges fertőzésének elvégzése és értékelése. Így bizonyosodhatunk meg az adott genotípus feketerothadás ellenállóságának pontos fokáról.

A 'Csillám' fajtánál tapasztaltunk egyedül tünetmentes ellenállóságot a levélen és fürtön egyaránt. A 'Seyval blanc' lomb- és fürtrezisztenciája is kimagasló volt. Ezek mellett a 'Merzling' fajta mutatott még ellenállóságot. Mind a három fent említett fajta az észak-amerikai *V. rupestris* fajtól származik, mely a *Guignardia bidwellii*-vel koevolúcióban él. Figyelemre méltó még a kelet-ázsiai *Vitis amurensis* génforrásból származó jó lomb- és fürtellenállóságú két hibrid ('5-11-2', '5-10-6'). A fürtfertőzések bonitálásakor megfigyelt leváló felszíni foltokat elsőként írtuk le nem *muscadinia* szőlőkön. Az ilyen típusú fürt rezisztenciával rendelkező fajták nagy gazdasági jelentőséggel bírnak,

mivel mérsékelt levéltünetek megjelenésekor sem keletkezik termésveszteség, ugyanakkor nemesítési alapanyagának kevésbé alkalmasak. A *Vitis vinifera* fajták fogékonyak bizonyultak, még a gombának kedvező grúziai meleg, csapadékos klímájú területekről származó egyedeknél sem találtunk nemesítési célokra felhasználható kimagasló rezisztenciaforrást.

A tesztelőkertben végzett szabadföldi megfigyelések egybevágtak a klímaszobában kapott eredményekkel, de önmagukban a szabadföldi megfigyelések nem elégségesek az egyes genotípusok ellenállóságának megállapításához, szükséges ezeket mesterséges körülmények között is levizsgálni.

Az általunk kiemelt 'Csillám' fajta alkalmas lehet feketerothadás rezisztencianemesítési alapanyagának, mivel kimagasló lomb- és fűrtrezisztenciája mellett jó minőséggel rendelkezik. Eredményeink alapján javasoljuk a 'Csillám' fajtának nemesítési munkákban történő felhasználását.

A **12-14**-es és **12-15**-ös hibrid családokról kiderült a levéletesztelések során, hogy nem alkalmasak a feketerothadás rezisztenciagén vizsgálatára, mivel a magoncok között nem találtunk következetesen ellenálló egyedeket. 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. Nemesítési alapanyagot a levél- és fűrtfertőzések alapján nem sikerült kiemelni a **11-19**-es családból. Azonban a **11-20**-as család vizsgálatokor feketerothadással szemben a rezisztenciadonorként szolgáló szülőhöz hasonlóan nagyszámban találtunk tünetmentes rezisztenciájú egyedeket, amiből arra következtetünk, hogy ez a keresztezési kombináció is alkalmas lehet a rezisztenciagén megfigyeléséhez. A család feketerothadás rezisztens magoncai közül, szőlészeti és érzékszervi vizsgálatok alapján több olyan értékes egyedet találtunk, melyek alkalmasak lehetnek a további nemesítési munkákhoz.

A **15-4**-es család vizsgálatokor a magoncok közel fele (60 db) mutatott rezisztenciát, ami 1:1 arányú hasadásnak számít, amit az elvégzett (χ^2) khi négyzet számítás igazolt. Ebből arra következtetünk, hogy a 'Csillám'-tól eredő sikeresen átörökített rezisztenciáért a **15-4**-es

családban egy nagyhatású gén lehet felelős. 2017-ben egy hibás földkeverék szállítmány miatt a család kipusztult, ezért eredményeinket nem sikerült megerősíteni, így csak előkísérletnek tekinthető. Azonban a 'Csillám' fajta évről évre következetes tünetmentes rezisztenciája, valamint a vele készített magonccsalád ígéretes, megfelelő időben elvégzett teszteredménye alapján érdemesnek gondoljuk ezen kombináció megismétlését, és további, mélyebb vizsgálatát, hogy meghatározzuk a feketerothadás rezisztencia öröklődését és genomi elhelyezkedését.

5. Irodalomjegyzék

1. Jailloux, F. (1992): *In vitro* production of the teleomorph of *Guignardia bidwellii*, causal agent of black rot of grapevine. *Canadian Journal of Botany*, 70:254-257. p.
2. Molitor, D., (2009): Biologie und Bekämpfung der Schwarzfäule (*Guignardia bidwellii*) an Weinreben. Geisenheimer Berichte Bd. 65. Gesellschaft zur Förderung der Forschungsanstalt Geisenheim, Germany
3. 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.
4. Sváb J. (1973): Biometria módszerek a kutatásban. Mezőgazdasági Kiadó, 517 p.

6. Az értekezés témakörében megjelent közlemények

Impakt faktoros folyóiratok:

Roznik D., Hoffmann S., Kozma P. (2017): Screening a large set of grape accessions for resistance against black rot (*Guignardia bidwellii* (Ell.)) *Mitteilungen Klosterneuburg*, 67:149-157.p.

Kiss E., Tóth-Lencsés K., Szóke A., Roznik D., Kerekes A., Veres A., Kozma P. (2017): Origin of cv. 'Csillám' a promising source for black rot resistance. *Vitis*, 56:53-54.p.

Nem impakt faktoros, lektorált folyóiratok:

Roznik D., Hoffmann S., Csikász-Krizsics A., Kozma P. (2015): Szőlőnemesítési alapanyagok feketerothadás ellenállósága. *Borászati Füzetek*, Külön kiadvány, 150-152.p.

Kozma P., Hoffmann S., Roznik D., Horváth B., Dula Bencéné, Csikász-Krizsics A., Szabó A. (2015): Magas fokú, tartós rezisztenciával és versenyképes minőséggel rendelkező borszőlő fajták nemesítése Pécssett. *Borászati Füzetek*, Külön kiadvány 6-9.p.

Roznik D., Hoffmann S., Kozma P. (2017): Feketerothadás, az új kihívás a szőlő rezisztencia nemesítésében. *Jelenkori Társadalmi és Gazdasági Folyamatok*, 12:(3) 113-117.p.

Magyar nyelvű, lektorált konferencia kiadványok:

Roznik D., Hoffmann S., Csikász-Krizsics A., Váczy K., Kozma P. (2014): A feketerothadás (*Guignardia bidwellii*) elleni rezisztencia beépítése az új innovatív szőlőfajtákba. Növénynemesítés a megújuló mezőgazdaságban. Magyar Tudományos Akadémia, Budapest, 384-389.p.

Magyar nyelvű összefoglalók:

Roznik D., Hoffmann S., Kozma P. (2018): A *Vitis rupestris* feketerothadás ellenállóságának kiaknázása a borszőlő rezisztencia nemesítésben. XXIV. Növénynemesítési Tudományos Nap, 2018, Budapest, Összefoglalók, 120.p.

Roznik D., Hoffmann S., Kozma P. (2017): Feketerothadás (*Guignardia bidwellii*) ellenálló források azonosítása szőlőben. XXIII. Növénynemesítési Tudományos Nap, 2017, Budapest, Összefoglalók, 62.p.

Roznik D., Hoffmann S., Kozma P. (2016): Szőlő Feketerothadás ellenálló génforrások felkutatása a rezisztencianemesítés számára. XXII. Növénynemesítési Tudományos Nap, 2016, Budapest, Összefoglalók, 110.p.

Roznik D., Hoffmann S., Csikász-Krizsics A., Kozma P. (2015): Feketerothadás ellenálló szőlő rezisztenciaforrások keresése a nemesítés számára. 61. Növényvédelmi Tudományos Napok, 2015, Budapest, Összefoglalók, 95.p.