

SZENT ISTVÁN EGYETEM

**A CSONTHÉJASOK MONILÍNIÁS MEGBETEGEDÉSÉT ELŐIDÉZŐ  
KÓROKOZÓK NÖVÉNYKÓRTANI, GENETIKAI ÉS REZISZTENCIA  
VIZSGÁLATÁNAK EGYES ASPEKTUSAI**

**Doktori (PhD.) értekezés**

**SZÓDI SZILVIA**

**GÖDÖLLŐ**

**2014.**

**A doktori iskola**

**Megnevezés:** Növénytudományi Doktori Iskola

**Tudományága:** Növénytermesztési- és kertészeti tudományok

**Vezetője:** Dr. Helyes Lajos  
az MTA doktora, egyetemi tanár, intézetigazgató  
SZIE, Mezőgazdasági- és Környezettudományi Kar  
Kertészeti Technológiai Intézet

**Témavezető:** Dr. Turóczy György  
egyetemi docens  
SZIE, Mezőgazdasági- és Környezettudományi Kar  
Növényvédelmi Intézet

.....  
Az iskolavezető jóváhagyása

.....  
A témavezető jóváhagyása

# Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke.....	5
<b>1. BEVEZETÉS.....</b>	<b>7</b>
<b>2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS .....</b>	<b>9</b>
2.1. A <i>Monilinia</i> fajok rendszertani besorolása.....	9
2.2. A <i>Monilinia</i> fajok elterjedése, gazdanövényköre .....	9
2.3. A <i>Monilinia</i> fajok biológiája, variabilitása .....	10
2.3.1. A <i>Monilinia</i> fajok biológiája (életciklusa) .....	10
2.3.2. Molekuláris azonosítás specifikus primerekkel .....	12
2.3.3. A variabilitás jelentősége és a <i>Monilinia</i> fajok változékonysága.....	13
2.4. Rezisztencia nemesítés .....	14
2.4.1. Fajta rezisztencia.....	14
2.4.2. Meggyfajták jellemzése .....	16
2.4.3. Virág- és ágelhalás, mézgásodás.....	18
2.5. Biológiai védekezés .....	21
2.5.1. Biológiai védekezés antagonista gombákkal .....	21
2.5.2. A <i>Monilinia</i> fajok elleni biológiai védekezési lehetőségek.....	22
2.5.3. A <i>Clonostachys rosea</i> antagonista bemutatása és alkalmazási területe .....	23
2.6. Fungicid érzékenység.....	24
2.6.1. Kémiai védekezési lehetőségek .....	24
2.6.2. A vizsgálatba vont hatóanyagok és hatásmechanizmusuk .....	26
2.6.3. Fungicid hatékonyság különbségek .....	27
<b>3. ANYAG ÉS MÓDSZER.....</b>	<b>29</b>
3.1. Izolátumok származása, azonosítása és ökofiziológiai tulajdonságuk .....	29
3.1.1. Az izolátumok gyűjtése és tárolása.....	29
3.1.2. Az izolátumok azonosítása hagyományos diagnosztikai módszerekkel .....	32
3.1.3. Molekuláris azonosítás specifikus primerekkel .....	32
3.2. A <i>Monilinia</i> fajok genetikai variabilitása .....	34
3.2.1. A <i>Monilinia</i> fajok genetikai diverzitás vizsgálata.....	34
3.2.2. Adatelemzés.....	35
3.3. A <i>Monilinia</i> izolátum agresszivitásának és a meggyfajták fogékonyságának vizsgálata.....	36
3.3.1. A vizsgálatához használt izolátumok és meggyfajták .....	36
3.3.2. Mesterséges fertőzés bibén keresztül, <i>in vitro</i> .....	36
3.3.3. Bibeszövet vizsgálat .....	38
3.3.4. Mesterséges ágfertőzés, <i>in vitro</i> .....	41
3.3.5. Mesterséges ágfertőzés, <i>in vivo</i> .....	43
3.3.6. A fertőzött hancsszövet vizsgálata fluoreszcens mikroszkóppal .....	44
3.4. <i>Clonostachys rosea</i> mikoparazita alkalmazása .....	44
3.4.1. A vizsgálatához használt izolátumok.....	44
3.4.2. Antagonista hatásvizsgálat.....	44
3.4.3. Mesterséges bibefertőzés vizsgálat antagonistával, <i>in vitro</i> .....	46
3.4.4. Mesterséges gyümölcsfertőzés vizsgálat antagonistával.....	46
3.5. A <i>Monilinia</i> izolátumok fungicid érzékenysége .....	48

<b>4. EREDMÉNYEK.....</b>	<b>51</b>
<b>4.1. Izolátumok azonosítása .....</b>	<b>51</b>
4.1.1. Azonosítás hagyományos diagnosztikai módszerekkel .....	51
4.1.2. Molekuláris azonosítás specifikus primerekkel .....	53
<b>4.2. A Monilinia fajok variabilitási vizsgálata .....</b>	<b>57</b>
4.2.1. A vizsgált izolátumok genetikai diverzitása .....	57
4.2.2. Adatelemzés.....	59
<b>4.3. A Monilinia izolátumok agresszivitásának és a meggyfajták fogékonyságának vizsgálata.....</b>	<b>62</b>
4.3.1. Mesterséges fertőzés bibén, <i>in vitro</i> .....	62
4.3.2. Bibeszövet vizsgálat .....	64
4.3.3. Mesterséges ágfertőzés, <i>in vitro</i> .....	67
4.3.4. Mesterséges ágfertőzés, <i>in vivo</i> .....	69
4.3.5. A fertőzött háncsszövet vizsgálata fluoreszcens mikroszkóppal .....	74
<b>4.4. A Clonostachys rosea mikoparazita alkalmazása .....</b>	<b>78</b>
4.4.1. Az antagonista izolátum azonosítás .....	78
4.4.2. Antagonista hatásvizsgálat.....	78
4.4.3. Mesterséges bibefertőzés vizsgálat antagonistával, <i>in vitro</i> .....	79
4.4.4. Mesterséges gyümölcsfertőzés vizsgálat antagonistával.....	81
<b>4.5. A Monilinia izolátumok fungicid érzékenysége.....</b>	<b>84</b>
4.5.1. Fungicid érzékenység vizsgálat .....	84
4.5.2. <i>Monilinia</i> izolátumok relatív érzékenysége .....	86
<b>4.6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK .....</b>	<b>89</b>
<b>5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK.....</b>	<b>91</b>
<b>5.1. A Monilinia fajok variabilitási vizsgálata .....</b>	<b>91</b>
<b>5.2. A Monilinia izolátumok agresszivitásának és a meggyfajták fogékonyságának vizsgálata.....</b>	<b>93</b>
<b>5.3. A Clonostachys rosea mikoparazita alkalmazása .....</b>	<b>98</b>
<b>5.4. A Monilinia izolátumok fungicid érzékenysége.....</b>	<b>100</b>
<b>6. ÖSSZEFOGLALÁS.....</b>	<b>103</b>
<b>7. SUMMARY .....</b>	<b>107</b>
<b>8. MELLÉKLETEK .....</b>	<b>109</b>
<b>M1 - Irodalomjegyzék .....</b>	<b>109</b>
<b>M2 - Mellékletek .....</b>	<b>126</b>
<b>KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS .....</b>	<b>143</b>

## Rövidítések jegyzéke

AFLP	amplifikált fragmenshossz polimorfizmus ( <i><u>A</u>mplified <u>F</u>ragment <u>L</u>ength <u>P</u>olymorphism</i> )
bp	<u>b</u> ázispár
BR	alap rezisztencia ( <i><u>b</u>asic <u>r</u>esistance</i> )
DNS	<u>d</u> ezoxiribon <u>u</u> kleins <u>a</u> v
EDTA	etilén-diamin-tetraecetsav ( <i><u>E</u>thylen <u>D</u>iamine <u>T</u>etra <u>A</u>cetic <u>A</u>cid</i> )
EPPO	Európai és Földközi- tenger Melléki Növényvédelmi Szervezet ( <i><u>E</u>uropean and <u>M</u>editerranean <u>P</u>lant <u>P</u>rotection <u>O</u>rganization</i> )
FPA	formaldehid: propionsav:etil-alkohol
FRAC	Fungicid rezisztenciát vizsgáló akció csoport ( <i><u>F</u>ungicide <u>R</u>esistance <u>A</u>ction <u>C</u>ommittee</i> )
HS	magas érzékenységű ( <i><u>H</u>igh <u>S</u>ensitivity</i> )
iSSR	egyszerű belső szekvencia ismétlődés ( <i><u>i</u>nter <u>S</u>imple <u>S</u>equences <u>R</u>epeat</i> )
ITS	átírt köztes szekvenciák ( <i><u>I</u>nternal <u>T</u>ranscribed <u>S</u>pacers</i> )
kb	<u>k</u> ilobázis
LS	alacsony érzékenységű ( <i><u>L</u>ow <u>S</u>ensitivity</i> )
MS	közepesen érzékenységű ( <i><u>M</u>edium <u>S</u>ensitivity</i> )
MIC	Legkisebb gátlási koncentráció ( <i><u>M</u>inimal <u>I</u>nhibitory <u>C</u>oncentration</i> )
MP PCR	Microsatellit Polimeráz- láncreakció ( <i><u>M</u>icrosatellite <u>P</u>olymerase <u>C</u>hain <u>R</u>eaction</i> )
OMMI	<u>O</u> rszágos <u>M</u> ezőgazdasági <u>M</u> inősítő <u>I</u> ntézet
PCR	Polimeráz -láncreakció ( <i><u>P</u>olymerase <u>C</u>hain <u>R</u>eaction</i> )
ppm	milliomod rész ( <i><u>p</u>arts <u>p</u>er <u>m</u>illion</i> )
RAPD	véletlenszerűen sokszorosított polimorf DNS ( <i><u>R</u>andom <u>A</u>mplified <u>P</u>olymorphic <u>D</u>NA</i> )
RNase	ribonukleáz
rDNS	<u>r</u> iboszomális RNS-t kódoló sejtmagi <u>d</u> ezoxiribon <u>u</u> kleins <u>a</u> v
rRNS	<u>r</u> iboszomális <u>r</u> ibon <u>u</u> kleins <u>a</u> v
TE	<u>T</u> ris- <u>E</u> DTA puffer
u	egység ( <i><u>u</u>nit</i> )
UPGMA	csoportátlag ( <i><u>U</u>nweighted <u>P</u>air <u>G</u>roup <u>M</u>ethod with <u>A</u>rithmetic mean</i> )



# 1. BEVEZETÉS

A gyümölcsös ültetvények egyik legnagyobb ellensége a *Monilinia* fajok. A csonthéjas és almatermésű ültetvényekben az általuk okozott gyümölcsrothadás, valamint a csonthéjasoknál egyre nagyobb mértékben jelentkező virág- és hajtáspusztulás hívja fel a figyelmünket ezekre a kórokozókra (Pintér, 1998). A hazánkban és Európában is elterjedt betegséget három gombafaj okozhatja. A virág- és hajtáselhaláson kívül gyümölcsrothadást is kiváltó fajok a hazánkban régóta ismert *Monilinia laxa* (Aderh. & Ruhl.) Honey / *Monilia laxa* (Ehrenb.) Sacc. & Voglino, és a zárlati kórokozó *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey (= *Sclerotinia fructicola* (Wint.) Rehm. / *Monilia fructicola* Batra, valamint a sokféle gyümölcsöt károsító *Monilinia fructigena* (Aderh. & Ruhl.) Honey (= *Sclerotinia fructigena* Aderh. & Ruhl.) / *Monilia fructigena* Pers. A kórokozó jelenlétét könnyű megállapítani, azonban annak eldöntése, hogy a három *Monilinia* faj közül melyikről van szó, már laboratóriumi vizsgálatok szükségesek. A biotechnológiai gyors fejlődésének köszönhetően molekuláris vizsgálattal faji szinten gyorsan és pontosan meg lehet határozni a kórokozókat (Ioos és Frey, 2000; Cote et al., 2004).

A kórokozók elleni védekezés leghatékonyabb és leggazdaságosabb formája a növényi rezisztencia. A rezisztencia nemesítési munka során elő kell állítani, vagy fel kell kutatni azokat a rezisztenciaforrásokat, amelyek felhasználásával teljes vagy részleges betegség-ellenállóképeség vihető be az új fajtákba. Az eddigi ismereteink szerint a termesztett meggyfajták nem rezisztensek a *Monilinia* kórokozókval szemben, azonban a fajták fogékonysága között lényeges eltérések vannak.

Az integrált és a konvencionális gazdálkodást folytatóknak a XX. századi vegyipari fellendülés következtében a fungicidek széles skálája állt a rendelkezésükre, így a moniliniás betegség elleni védekezés is megoldottnak látszott. Ennek ellenére azt tapasztalták, hogy a kórokozók egyre agresszívebben lépnek fel. Már az 1970-es években felismerték, hogy a rendszeres fungicid használat rezisztenciát válthat ki, s ez a növények védelme szempontjából nagy kihívás (Josepovits, 1991). A kémiai növényvédőszer alkalmazását számos kritika éri. Ilyen például, hogy az ültetvénykezelések során a peszticidek elsodródhatnak, továbbá szennyezik a levegőt, a talajt és a talajvizet. Sok esetben károsítják a nem célszervezeteket is, valamint az élelmiszerekben problémát okozhatnak a szermaradékok. Ezen okok miatt az Európai Unió az elmúlt években számos hatóanyag engedélyezését visszavonta.

Az ökológiai gazdálkodást folytatók mindössze néhány növényvédelemre alkalmas készítményt használhatnak, s jelenleg hazánkban nincs a forgalomba *Monilinia* fajok ellen alkalmazható antagonisták készítmény.

### **Célkitűzéseim a fentiek alapján a következők voltak:**

Munkám során, az utóbbi évtizedekben a *Monilinia* fajok által okozott járványok lehetséges kialakulási okait kerestem, az alábbi területeken:

1. Molekuláris biológiai módszerekkel tanulmányoztam az izolátumok genetikai változatosságát, mely a kórokozók által előidézett fertőzésbeli különbségek egyik oka lehet. Arra kerestem a választ, hogy a fajon belüli szubpopulációk mennyire variábilisak, illetve a fajok között mekkora különbségek figyelhetők meg. Genetikailag elkülöníthetőek-e, és ha igen, mekkora távolságra vannak a fajok egymástól. Vizsgáltam, hogy van-e genetikailag kimutatható gazdanövény specializáció, van-e kimutatható évjáratban bekövetkező populáció változás? Elkülönülnek-e egyértelműen a fungicidekre kevésbé érzékeny izolátumok, szubpopulációk?

2. Munkám további célja az volt, hogy a köztermesztésben elterjedt hét meggyfajta (Érdi bőtermő, Csengődi, Cigánymeggy 59, Érdi jubileum, Kántorjánosi 3, Pándy 279, Újfehértói fűrtös) fogékonyságát vizsgáljam, és a különböző növényekről izolált *Monilinia* izolátumok patogenitását és agresszivitását összehasonlítsam.

3. Tanulmányoztam, hogy az egész fát veszélyeztető monilíniás virágfertőzés megakadályozásában lehet-e szerepe a számos kórokozó ellen sikeresen alkalmazott *Clonostachys rosea* antagonistának. A virágfertőzés megakadályozásán túl kulcsfontosságú a gyümölcsfertőzés kialakulásának megelőzése is. Ezért vizsgáltam, hogy lehet-e szerepe a *C. rosea* hiperparazitának a gyümölcsmúmiák kialakulásának visszaszorításában, így az inokulum képződés csökkentésében.

4. Vizsgáltam továbbá, hogy az utóbbi évtizedek egyre gyakrabban alkalmazott fungicides kezeléseik fokozták-e a gombaölőszerekkel szemben kevésbé érzékeny, ellenálló *Monilinia* izolátumok kialakulásának a veszélyét. A fungicid-rezisztenciáról, az egyes izolátumok csökkent érzékenységéről nincsenek irodalmi adatok, ezért célul tűztem ki a különböző csonthéjasról izolált kórokozók fungicidekkel szembeni ellenállóságának vizsgálatát.

A dolgozatban található mikroszkópos és tüneti fényképek, valamint egyéb ábrák többsége a saját munkám, ezekben az esetekben az ábrák forrását nem jelöltem meg. A dolgozatban felhasznált, mások által készített ábrák, képaláírások alatt a szerzők nevét minden esetben feltüntettem.



## 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 2.1. A *Monilinia* fajok rendszertani besorolása

Törzs: *Ascomycota* (aszakuszos gombák)

Osztály: *Leotiomycetes* (csészegombák) (Eriksson és Winka, 1997)

Rend: *Helotiales*. A tömlősgombák egyik legnagyobb, legtöbb fajt számláló rendje. Az aszkuszok egyszerű falúak és egyszerű pórussal nyílnak fel. A termőtest csésze vagy tányér alakú, nyeles vagy nyél nélküli.

Család: *Sclerotiniaceae*. Az apotécium barna színű, nyeles. Az aszkuszok hengeres alakúak, az aszkospórák elliptikusak és legtöbbször egysejtűek. A legtöbb faj növényeken élősködik. (Például: *Monilinia*, *Botryotinia*, *Sclerotinia*, *Stromatinia*) (Bánhegyi és mtsai, 1985).

Nemzetség: *Monilinia*. A tölcser alakú apotécium álszkleróciumon, azaz gyümölcsmúmián jön létre. Az apotéciumban parafizisek vannak. Az apotéciumban 8, egysejtű, ovális, színtelen aszkospóra található. A nemzetségbe tartozó fajok közül az almatermésűeken és a csonthéjasokon a *Monilinia fructigena* Honey (in Whetzel), a csonthéjasokon a *M. laxa* (Aderhold & Ruhland) Honey és a *M. fructicola* (G. Winter) Honey, a birsen a *M. linhartiana* fordul elő. A *M. polystroma*-ról van Leeuwen és munkatársai (2002) megállapították, hogy a *M. fructigena* közeli rokona.

### 2.2. A *Monilinia* fajok elterjedése, gazdanövényköre

A *Monilinia* fajokat a világon az alábbi helyeken írták már le: Európa, USA (különösen Kalifornia), Marokkó, Dél-Afrika, Törökország, Libanon, Izrael, Irak, Afganisztán, Közép-Ázsia (volt SZU), Kína, Japán, Ausztrália, Új-Zéland, Kanada, Guatemala, Brazília, Argentína, Uruguay, Chile (Mordue, 1979).

A *M. fructigena* és a *M. laxa* hagyományos tekintetben az Óvilág fajai, míg a *M. fructicola* az Újvilág faja (Batra, 1991). Míg Észak- Amerikában a gyümölcsök barna rothadását elsősorban a *M. fructicola* okozza és csak kis mértékben a *M. laxa*, addig Európában főleg a *M. laxa* és a *M. fructigena* okozza ezt a betegséget (Byrde és Willetts, 1977). A *M. polystroma*-t korábban csak Japánban izolálták és azonosították (van Leeuwen et al, 2002) azonban hazánkban is megtalálták 2008-ban (Petróczy és Palkovics, 2008).

A *Monilinia* fajokat az alábbi gazdanövényeken említi az irodalom: kajszi (*P. armeniaca*), őszibarack (*P. persica*), cseresznye (*P. avium*), meggy (*P. vulgaris*), szilva (*P. domestica*), mandula (*P. amygdalus*), törpemandula (*P. tenella*), babarózsa (*P. serrulata*), babérmeggy (*P. laurocerasus*), alma (*Malus domestica*), körte (*Pyrus sp.*), birs (*Cydonia oblonga*), mogyoró (*Corylus avellana*), naspolya (*Mespilus germanica*), japánnaspolya (*Eriobotrya japonica*), japáncseresznye (*Prunus*

*serrulata*), vérszilva (*Prunus cerasifera* „Nigra”), szamóca (*Fragaria sp.*), szőlő (*Vitis vinifera*), rododendron (*Rhododendron sp.*) és ginzenggyökér (*Panax quinquefolius*) (Ogawa et al., 1995; Rozsnyay és Vajna, 2001).

A *Monilinia* fajok fertőzést okoznak néhány dísz körte- (*Pyrus*) és cseresznye- (*Prunus*) fajon is (Wormald, 1954). A *Monilia fructigena* gazdanövényeiként említett 11 család 40 faja között számos díszfa és díszcserje is megtalálható pl.: házi berkenye (*Sorbus domestica*), japánbirs (*Chenomeles japonica*), rózsa (*Rosa sp.*), fanyarka (*Amelanchier*). A *Monilinia* fajok fertőzhetnek néhány-elsősorban *Prunus* nemzetségbe tartozó- díszfát is (Holb, 2003).

## **2.3. A *Monilinia* fajok biológiája, variabilitása**

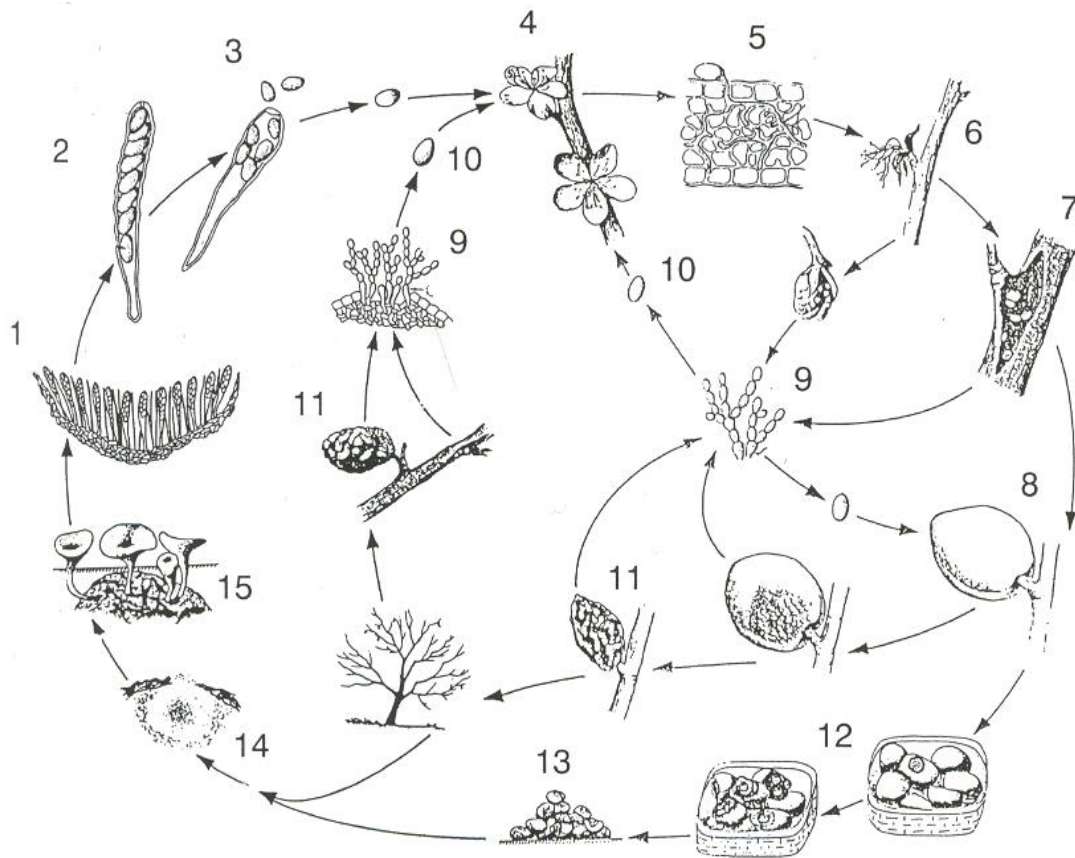
### **2.3.1. A *Monilinia* fajok biológiája (életciklusa)**

A dolgozatomban vizsgált mindhárom *Monilinia* faj (*M. laxa*, *M. fructigena* és *M. fructicola*) esetében a fertőzés kiinduló forrása az előző évben fejlődött gyümölcsmúmiák, illetve az azon fennmaradó vegetatív micéliumok és áttelelő álszkleróciumok (**1.ábra:** 12, 13) (Pintér, 1998; Holb, 2008). Megfigyelések szerint ezeken a gyümölcsmúmiákon tízszer annyi konídium képződik, mint a fekélyes sebekben vagy az adott évben fertőzött virágokon (Stensvand et al., 2001). Az ivaros szaporodást, mely során az álszkleróciumon hosszú nyelű apotéciumok fejlődnek és a belőlük kiszabaduló aszkospórák fertőzik a virágokat, hazánkban ez idáig egyik faj esetében sem figyelték meg, jelentősége csekély. (**1.ábra:** 14, 15, 1, 2, 3, 4). A *M. fructicola* életciklusában azonban az ivaros folyamatnak nagy szerepe van (Hong és Michailides, 1998).

A vesszőkön és az ágakon lévő rákos sebek is fontos fertőzési források, ahol a micélium áttelel és tavasszal új exogén sztrómákat hoz létre (Byrde és Willets, 1977). Innen, valamint a gyümölcsmúmiákról tavasszal konidimtartók képződnek és konídiumok fűződnek le (**1.ábra:** 7, 8, 9, 10, 11). A létrejött spórák szél, esőcsepp, pára vagy rovarok segítségével terjednek, jutnak a virágra (Luo et al., 2005; Rozsnyay, 2005; Holb és Scherm, 2007). A sporuláció intenzitása és időtartama nagymértékben függ a vízzel való érintkezéstől (Luo et al., 2001a). A konídiumok a virágrészekre kerülnek, ott kicsíráznak és a hifa a magházba, majd a hajtásokba kerül (**1.ábra:** 4, 5, 6, 7) (Weaver, 1950; Tamm et al., 1995). A fertőzés széles hőmérsékleti skálán (4 - 30 °C között) bekövetkezhet, de az optimum kb. 24 °C -ra tehető (Calavan és Keitt, 1948; Holb, 2008). Az inkubáció ideje a nedvesség növekedésével csökken (Biggs és Northover, 1988; Luo et al., 2001a).

A fertőzött virágok elszáradnak, elhalnak, és a kórokozó a kocsányon keresztül benő a fás részekbe is. A fertőzött kéregszövetben lévő micélium az egyre melegebb idővel fokozatosan tovább növekszik, terjed a hánccs- és faszövet belsejében, és ezeken a területeken a kéregszövet pusztulásnak indul. A fiatal hajtások a csúcsi résztől is elszáradnak. Nagyobb ágrészek, kötődött

gyümölcsök, termőnyársak és hajtások pusztulását is okozhatja (**1.ábra**: 7, 8) (Apostol és Véghelyi, 1992). Nedves, csapadékos időben az összes megfertőzött növényi részen megjelenhetnek a szürke penészegek, melyek a gomba konídiumtartóiból és láncokban lefűződő konídiumokból állnak.



**1. ábra** A *Monilinia laxa*/*Monilia laxa* életciklusa (1.apotécium, 2.aszkusz, 3.aszkospóra szóródás, 4.virágfertőzés, 5.kolonizáció, 6.virágelhalás, 7.ágelhalás, 8.gyümölcsfertőzés, 9.konídiumlánc, 10.konídium, 11.gyümölcsmúmia, 12-13.beteg, áttelelő gyümölcs, ivari folyamat, 14-15.apotécium képződés) (Agrios, 1997)

A *Monilinia* fajok által okozott gyümölcsfertőzés az érő vagy érett gyümölcsön határozott szegélyű, gyorsan terjedő barnulás formájában jelentkezik. A *M. laxa* és a *M. fructigena* is sebz paraziták, azaz a fertőzés létrejöttéhez szükséges valamilyen sérülés. Ez lehet állati károsító (madár, rovar) kártétele, növekedési - érési csattanás vagy mechanikai sebzés (jég, egyéb) (Holb és Scherm, 2008). Az EU-ban zárlati kórokozó *M. fructicola* fertőzése létrejön az ép kutikulán keresztül is (Biggs és Northover, 1988; OEPP/EPPO, 2003), bár ez a közvetlen fertőzés 30 óra kedvező nedvességet követel (Holb, 2008). A *M. fructigena* elsősorban az almatermésűek monília gyümölcsrothadását idézi elő, a rothadó foltokon koncentrikus gyűrűkben okkersárga színű penészpárnáskák képződnek. A *M. laxa* elsősorban a csonthéjas gyümölcsfajok monília gyümölcsrothadását idézi elő, és a barna rothadó foltok felületén elszórtan képződnek szürke penészpárnáskák. A *M. fructicola* penészpárnái kezdetben a fertőzés helyétől sugárirányba

fejlődnek, majd az egész gyümölcs felületét egybefüggő penészszerű vonja be (Véghelyi, 2006). Az egymással szorosan érintkező, terméscsoportban álló gyümölcsökbe mindhárom faj az ép héjon keresztül micéliummal halad tovább (Michailides és Morgan, 1997; Glits és Folk, 2000). A moníliával fertőzött gyümölcs kezdetben barnára színeződik, puhul, rothad, majd összezsugorodik és mumifikálódik. A gomba penészpárnáskái a múmiákon és a rothadó gyümölcsökön is megjelennek (**1. ábra:** 11, 12, 13).

Az inkubációs idő csökken a nedves periódus növelésével (Biggs és Northover, 1988). Hasonló megállapításra jutottak Luo és munkatársai (2001a), akik a sporuláció intenzitását és időtartamát vizsgálták a nedves periódusok alatt. Későbbi tanulmányukba megfigyelték, hogy a gyümölcsrothadás fejlődési rátája lineárisan nő az érési szezon alatt (Luo et al., 2005). A rothadó gyümölcs rendszerint nem hullik le, hanem hozzátapad a fához, mivel a bomló szövetből felszabaduló toxinok a hajtásba jutnak, és megakadályozzák a gyümölcs és a kocsány közötti elválasztó réteg kialakulását.

A tárolás során a fertőzött gyümölccsel érintkező egészséges termés sérülés nélkül képes megfertőződni (**1.ábra:** 11, 12, 13) (Michailides és Morgan, 1997). A hűtve tárolt gyümölcsök gyakran megfeketednek, és rajtuk a kórokozó egyáltalán nem, vagy csak kismértékben sporulál. A megfeketedett részben egyaránt megtalálható a gazdanövény és a gomba szövetei is (Ogawa et al., 1995).

### **2.3.2. Molekuláris azonosítás specifikus primerekkel**

A *Monilinia* fajok egymástól való pontos elkülönítése morfológiai bélyegeik alapján nehéz, azonban napjainkban már számos molekuláris biológiai módszer áll a rendelkezésre a fajok azonosításához és megkülönböztetéséhez.

Fulton és Brown (1997) a *M. fructicola* azonosítására a riboszóma kis alegységében található I-es intront használta. Ioos és Frey (2000) egy egyszeri PCR futtatásos módszert fejlesztett ki a *Monilinia* fajok gyors meghatározásához. Olyan primereket terveztek, melyek a 18S és 28S rRNS gének közötti riboszómális ITS1-régióra, az 5,8S-génekre és az ITS2-régióra specifikusak. Ezek a specifikus primerpárok fajspecifikusak, tehát vagy a *M. laxa*, vagy a *M. fructigena* vagy a *M. fructicola* fajokat ismerik fel.

Újabban a multiplex PCR eljárás fejlesztésével a PCR termékek mérete alapján még egyszerűbbé vált a *Monilinia* fajok azonosítása (Cote et al., 2004).

### 2.3.3. A variabilitás jelentősége és a *Monilinia* fajok változékonysága

Ha egy populáció genetikai állománya variábilis, az azt is jelenti, hogy könnyebben alkalmazkodik a változó környezethez. A kórokozók a folyamatosan változó fizikai környezetben túl, állandó harcot vívnak elsősorban az újonnan kialakított növényvédőszerrel, valamint a mikoparazitákkal is. Számos irodalom beszámol a *M. fructicola* és a *M. laxa* kórokozó fungicid érzékenységének a megváltozásáról, illetve egyes fungicidekkel szembeni rezisztenciáról (Ritchie, 1983; Ma et al., 2003b; Schnabel et al., 2004; Yoshimura et al., 2004; Ma et al., 2005; Cox et al., 2007).

A létért folyó küzdelmen túl fontos az is, hogy újabb, számukra ezidáig "el nem foglalt" területen megjelennek, és ott alkalmazkodnak az adott környezethez (Vida, 1981). Így figyelhetjük meg Európában a *M. fructicola* térhódítását (Bosshard et al., 2006; Petróczy és Palkovics, 2006; Duchoslavová et al., 2007; Pellegrino et al., 2009; Ondejkova et al., 2010). Azon kívül, hogy a változékonnyabb populációk többféle élőhelyet használhatnak ki, megfigyelhető a gazdanövénykörük bővülése is. Ilyen például a *M. laxa* esetében a szőlő gazdanövény, amelyet 2008-ban írtak le először hazánkban, s egyben egész Európában is (Horváthné, 2009).

Egy patogén populáció genetikai struktúrájának ismerete segíthet kifejleszteni a hatékony növényvédelmi eljárást. A genom feltérképezése során láthatjuk a fajok közötti hasonlóságokat és különbségeket, melyek a patogenitásbeli különbségre is visszavezethetőek (Ogawa és English, 1960). Snyder és Jones (1999) (GACA)<sub>4</sub> és (GTG)<sub>5</sub> mikroszatellit primer PCR próbát alkalmaztak a *M. laxa* *M. fructicola* kórokozótól való elkülönítésére. Ma és munkatársai (2003a) M13 mikroszatellit primert alkalmaztak nested PCR-rel *M. fructicola* vizsgálatához. Míg 1,5% agaróz gélen nem tudtak különbséget felmutatni, addig a két fragmentum nukleotid szekvenciája szignifikáns különbséget mutatott összesen 58% eltéréssel. A *M. fructicola* más esetben is egyedi mintázatot eredményezett mikroszatellit primerekkel (Weising et al., 1995; Ma et al., 2001). Förster és Adaskaveg (2000) kaliforniai *M. laxa* izolátumokat alkalmazva nagyon kicsi genetikai variabilitást találtak.

Fulton és munkatársai (1999) RAPD PCR adat alapján azt állapították meg, hogy a *M. laxa* populációban megjelenő variáció nem függ össze a földrajzi eredettel. A *M. fructigena* izolátumok estében azonban már itt említi, hogy a Japánból származó izolátum eltér az európaiktól, melyet később van Leeuwen és munkatársai (2002) *M. polystroma* kórokozóként írtak le.

Holst-Jensen és munkatársai (1997) vizsgálati eredményei szerint a *Monilinia* fajok nem monofiletikusak. Az egyes fajokon belüli genetikai különbségek tanulmányozásával meghatározható a polimorfizmus foka is. Gell és munkatársai (2007) Spanyolországból származó *M. laxa* populációt tanulmányoztak RAPD markerekkel. Ezek a szerzők elsőként vizsgálták Európában a *M. laxa* populáció genetikai diverzitásának fokát, s ültetvényen belüli populációnál

nagy diverzitást állapítottak meg. Gril és munkatársai (2008) AFLP technikát alkalmazott a *M. laxa* intraspecifikus variabilitásának jellemzéséhez. Megállapították, hogy az izolátumok között magas a genetikai variabilitás, azonban sem gazdanövény, sem földrajzi származás szempontjából nem tudtak elkülöníteni klasztereket.

## **2.4. Rezisztencia nemesítés**

### **2.4.1. Fajta rezisztencia**

A betegségek elleni leghatékonyabb és leggazdaságosabb védekezési lehetőség az ellenálló növényfajták előállítása. A betegségekkel szemben ellenálló vagy toleráns növények termesztése gazdaságosabb és környezetkímélő is. Az újonnan terjedőben lévő biotermesztés és fenntartható mezőgazdasági termelés során is az egyik legfontosabb eljárás a rezisztens vagy toleráns fajták termesztése.

A gazdanövényben a leggyorsabb válaszrendszer egy mikrobiális fertőzésre a növényi általános rezisztencia (Ott et al., 2008). Ez a természetes ellenálló képesség vagy a kórokozó, vagy a betegség kialakulása ellen hat, így a rezisztencia lehet nem specifikus, azaz horizontális, vagy specifikus azaz vertikális (Fodor et al., 2007). A patogenitást (fertőző-képességet) és a betegségrezisztenciát több gén is szabályozhatja (Klement, 2003). Ezeknek a géneknek, valamint a külső tényezők állandó változása miatt, a fajta ellenálló képesség és a kórokozó virulenciája változatos képet mutat (Király et al., 1972).

Az eddigi ismereteink szerint a termesztett meggyfajták nem rezisztensek a *Monilinia* kórokozókval szemben, azonban a fajták fogékonysága között lényeges eltérések vannak. A fajták ellenállósága között lévő különbségek feltérképezése nagyon fontos feladat, hiszen a későbbiekben a hagyományos és molekuláris nemesítési munkával nyomon követhető az adott rezisztencia szint, valamint az adott rezisztencia gén. A betegségekkel szemben tartós rezisztenciát hordozó fajták előállítása a nemesítés fő törekvése (McDonald és Linde, 2002). A rezisztenciát akkor nevezhetjük tartósnak, ha a fajta ellenállóképessége akkor is megmarad, ha a betegség terjedésének tartósan kedvezőek a környezeti feltételek (Katuláné, 2011).

Hazánk a cseresznye- meggy másodlagos géncentrumában fekszik, vagyis azon a területen, ahol a termesztett fajták létrejöttek és évszázadok óta együtt élnek a kórokozókval (Apostol et al., 1998). E fajok egyedei csak úgy maradhattak fenn az ember hathatós segítsége nélkül, ha természetes szelekció útján bizonyos fokú rezisztenciával rendelkező tájfajták alakulnak ki. Az így létrejött Cigánymeggy típusok főképpen magról keltek, s szaporodtak el valóságos populációt alkotva. Ezzel ellentétben a Pándy meggyek nem magról keltek, hanem főképpen sarjakkal

terjedtek, később oltással- szemzéssel létrejött klón "populációt" alkottak, így bennük a kórokozókkal szemben nem alakult ki ellenálló képesség, hiszen a termőképességre történt a szelekció (Paszternák et al., 1982; Apostol, 1996). A hazai fajta szortimentben a pipacs meggyfajták (Korai pipacsmeggy, Pipacs 1) is bizonyos fokú ellenállóságot mutatnak (Holb et al., 2005). A spontán rezisztencia azonban (rendszerint) nem kapcsolódik a jó termesztési tulajdonságokhoz, így amíg a nemesítők csak az áru értéket vették figyelembe, a betegségekre fogékony fajták kerültek termesztésbe. A rezisztencianemesítés során elő kell állítani, vagy fel kell kutatni azokat a rezisztenciaforrásokat, amelyek felhasználásával teljes vagy részleges betegség-ellenállóság vihető be az új fajtákba. Apostol és munkatársai (1998) a Csengődi tájfajtára, mint rezisztenciaforrásra alapozták munkájukat. Ez a fajta Csengődi néven kapott állami minősítést 1990-ben, és a blumeriellás levélfoltosodás és a moniliás ágszáradással szembeni ellenállósága miatt különösen értékes.

A szakirodalomban számos fajnál és fajtánál találunk leírást arra vonatkozóan, hogy ellenálló vagy érzékeny a moniliniás fertőzésre (**1. táblázat**). A meggy gyümölcsét a *M. laxa* és a *M. fructigena* kórokozó sebzésen keresztül tudja csak megfertőzni, míg a nálunk zárlati károsító a *M. fructicola* az ép bőrszöveten keresztül is képes behatolni (Kappel és Sholberg, 2008). Ez utóbbival szemben azok a fajták ellenállóbbak, amelyeknél a sztómákban parenchimatikus szövetből álló dugószerű zárókészülék található. A gyümölcsök monilínia fertőzéssel szembeni fogékonysága szoros összefüggésben van a repedésre való hajlammal is. A vékonyabb gyümölcshéj – erősebb felrepedés nélkül – önmagában is fokozza az érzékenységet (Bargioni, 1982). Az őszibaracknál megállapították, hogy a lapos gyümölcsű fajták érzékenyebbek, továbbá a fehér húsú fajták (pl.: Champion, Springtime) általában érzékenyebbek, mint a sárga húsúak. A csonthéjasok késői virágzása nemcsak a fagykár elkerülésének nagyobb valószínűsége miatt kedvezőbb, hanem a melegebb időjárás révén a virágok kisebb monilínia fertőzése szempontjából is.

A monilínia fertőzéssel szembeni fajtaérzékenység egységes megítélésére többféle kategória létezik. Bellini és munkatársai (1984) olyan skálát javasolnak, ahol a nagyobb számok az erősebb fogékonyságra utalnak. A szilva fajtáknál az érzékenységet Cobbianchi és Watkins (1984) foglalta rendszerbe, ahol a 9-es értékű fajta a legérzékenyebb. Azonban találni a szakirodalomban nagymértékben fogékony, mérsékelt fogékony, kismértékben fogékony, toleráns, részben ellenálló kifejezéseket is (Holb, 2008).

Meggy fajták közül viszonylag ellenállónak írják le az alábbiakat: Latvijszkaja Nizkaja (Tics, 1962), Nagy korai, Korai Angol (Cociu, 1970); Mocanesti, Ljubszkaja, Sirpotreb, Vlagyimirszkaja, Plodorodnaja Micsurina, Oblacsinszka, Cigánymeggy 3, Marculesti 29/1 (Cociu és Gozob, 1979); Maraska Savena, Mettar, Marasca di Pova (Testoni és Albertini, 1983); Elegija

(Turovcev és Turovceva, 1985); Csengődi (Apostol, 1990); Pipacs 1 (Kovács és Apostol, 1990); Akasztói, Cigánymeggy 59 (Apostol és Véghelyi, 1992; Véghelyi és mtsai., 1996).

Munkám során a már több évtizedes kutatói múlttra visszatekintő Állami Gyümölcs - és Dísznövény termesztési Kutató-Fejlesztő Közhasznú Nonprofit Kft. munkájába kapcsolódtam be. A vizsgálatokat a kutatóintézet elviramajori kísérleti területén, a következő meggyfajtákkal végeztem: 'Érdi bőtermő', 'Csengődi', 'Cigánymeggy 59', 'Érdi jubileum', 'Kántorjánosi 3', 'Pándy 279' és az 'Újfehértói fürtös'. A **1.táblázat**ban foglalom össze az irodalomban található fajta fogékonysági besorolást.

**1.táblázat:** Meggyfajták fogékonysága a monilínia fertőzésre irodalmi adatok alapján (Apostol és Rozsnyay, 2003., Rozsnyay, 2004; Brózik és Kállay, 2000)

<b>Fajta</b>	<b>Irodalmi adatok</b>
Érdi bőtermő	fogékony
Újfehértói fürtös	mérsékelten fogékony, fogékony
Kántorjánosi 3	toleráns, fogékony
Cigánymeggy59	mérsékelten fogékony
Érdi jubileum	toleráns
Pándy 279	fogékony
Csengődi	toleráns

#### **2.4.2. Meggyfajták jellemzése**

A kísérleteket államilag elismert meggyfajtákkal végeztem, amelyek a szakirodalomokban az alábbi tulajdonságokkal rendelkeznek (röviden):

- **Érdi bőtermő:** Maliga Pál és Apostol János állította elő a Nagy angol és Pándy fajták keresztezéséből. Június 20-25-e körül érik. Gyümölcse középnagy, megnyúlt gömb alakú, sötétpiros színű. Fája középerős növekedésű, koronája lapított. Korán virágzik, virágai öntermékenyülők. A meggyfajták közül egyedülálló önszabályozó rendszerrel működik, azaz a terméskötődés után csak annyi gyümölcsöt hagy meg a fa amennyit ki tud nevelni. Irodalmi adatok alapján, a monilínia gombával fertőzött hajtások elhaltak és az egészséges rész határán mézgakiválás található (Apostol, 2003; Szabó, 2004). A monilíniás ágelhalásra fogékony (Brózik és Kállay, 2000).
- **Újfehértói fürtös:** Tájszelekció során Pethő Ferenc és munkatársai emelték ki. Július elején viszonylag későn érik. Gyümölcse nagy, kissé lapított alakú, kemény húsu, nagy cukortartalmú. Fája erős növekedésű, a felfelé törő Pándynál kisebb koronájú. Késői



virágzású, öntermékenyülő virágai vannak. Moníliával szemben mérsékelten fogékony az OMMI vizsgálatai alapján (Apostol, 2003; Szabó, 2004). Irodalmi adatok alapján (Rozsnyay, 2004) viszont a monilínia gombával szemben fogékony.

- Kántorjánosi: Mátészalka környékén végzett tájselektáció eredménye, melyet Szabó Tibor és munkatársai karoltak fel. Június végén - július elején érik. Gyümölcse közepes nagyságú, nyomott alakú, bordópiros. Fája erős növekedésű, koronája szétterülő, ezért viszonylag alacsonyabb. Felkopaszodásra hajlamos idősebb korban. Későn virágzik, virágai öntermékenyülők. Az OMMI vizsgálata alapján moníliára érzékenyebb, mint az Újfehértói fürtös (Apostol, 2003; Szabó, 2004). Irodalmi adatok alapján (Rozsnyay, 2004), a virágfertőzésen keresztül csak az esetek kis százalékában okozott károsodást, ezért toleráns fajtának minősítették.
- Cigánymeggy: Feltehetően magyar eredetű fajtakör, tagjai nagy változatosságot mutatnak. Igénytelen, a sekélyebb termőrétegű területeken is megél (Brózik és Kállay, 2000). Érés idejük június közepétől 2-3 hétig tart. A gyümölcsök mérete nagyon apró, gömb alakú, sötét bordó. Nagy a sav-és szárazanyagtartalma is. Fája közepes növekedésű, vékony gallyazatú, kuszált sűrű koronájú. Önmeddő és öntermékenyülő változatok is előfordulnak, de mára csak az öntermékenyülő változatok szaporíthatóak. *Monilinia spp.* kórokozóval szemben kisebb-nagyobb rezisztenciával rendelkező típusokat ismerünk (Apostol, 2003, Szabó, 2004). Az eddigi fajta összehasonlító vizsgálatok szerint (Rozsnyay, 2004), a Cigánymeggy 59 a mérsékelten fogékony fajták közé tartozik. A szerző a mesterséges fertőzési kísérleteket a virágon keresztül végezte és a fertőzöttséget a vessző elhalás és mézgásodás alapján állapította meg.
- Érdi jubileum: Pándy és Eugénia fajták keresztezésével állította elő Maliga Pál és Apostol János. Július közepe táján érik, és gyümölcse 2-3 hétig is a fán tartható minőségromlás nélkül. Közepes nagyságú, gömb alakú sötétpiros, fénylő, keményhúsú gyümölcse van. Kedvező sav és cukorarányú. Fája középérső növekedésű, kezdetben fölfelé növekedő, majd széthajló koronája van. Virágzása középkései, virágai öntermékenyülők (Apostol, 2003; Szabó, 2004). A monilíniás ágelhalással szemben toleráns fajta (Brózik és Kállay, 2000).
- Pándy: A Kárpát-medencében őshonos természetű meggyek között spontán létrejött fajta. A magyar meggy hírnevét e fajtakör alapozta meg, az 1970-es évek előtt Magyarország fő meggyfajtája volt. Ma már csak szelektált klónjai, Pándy 48, Pándy 279, Pándy Bb.119 szaporíthatók, amelyek 1978-1979-ben kaptak állami elismerést. Érés ideje június harmadik dekádjára tehető, a 279-es klón érik be a legkésőbb. Gyümölcse nagy, lapított gömb alakú, közepes héjvastagságú. Fája erős, koronája fölfelé törő. Virágzása korai, illetve egyes klónoké középkorai. Virágai önmeddők így másik fajtával együtt kell telepíteni. Általában

Cigánymeggy klónokkal telepítik együtt. Jó pollenadója a Cigánymeggy 7 és Cigánymeggy C 404, de a Pándy 279-et a Cigánymeggy 59 fajta is jól termékenyíti. Irodalmi adatok alapján, a monilínia gombával fertőzött hajtások elhaltak és az egészséges rész határán mézgakiválás található (Apostol, 2003; Szabó, 2004). A Pándy 279 számú klón a *Monilinia* gombával szemben fogékony.

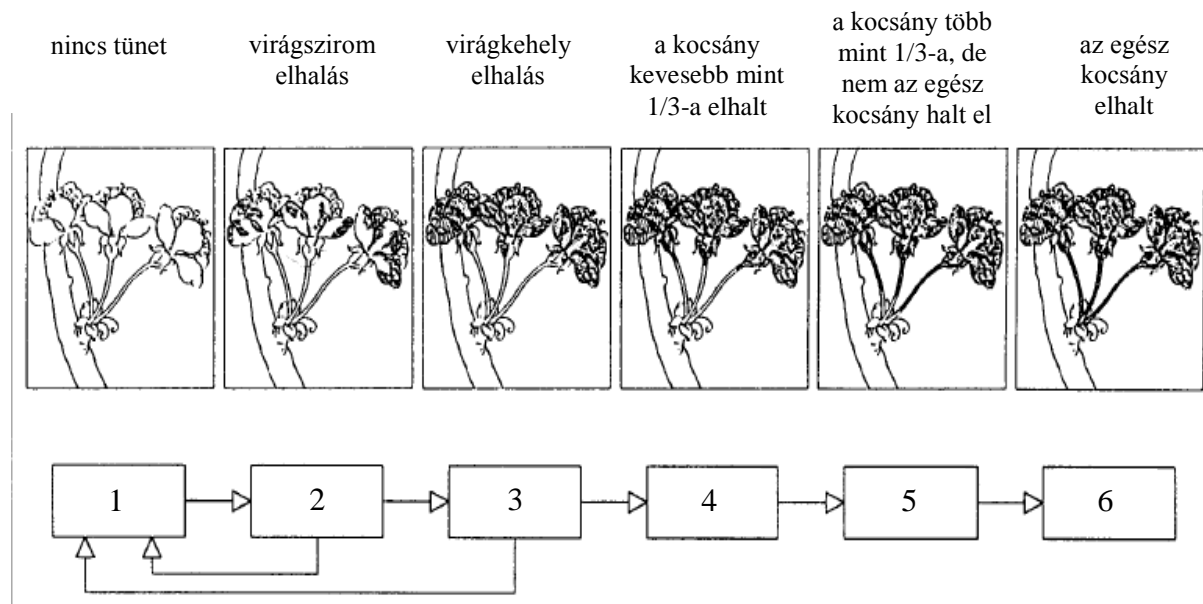
- Csengődi: Tájszelekció útján a "Bosnyák meggyek" közül szelektálta Apostol János. Érése június 10-e táján kezdődik, azonban 8-10 napos eltérések is lehetnek az egyes fa részek között. Gyümölcse kicsi, gömb alakú, savas. Fája nagyon erős, felfelé törő. Virágzása középkorai, virágai öntermékenyülők. A *Monilia* és a *Blumeriella* kórokozókkal szemben nagyfokú ellenállóságot mutat, így rendkívül fontos fajta (OMMI vizsgálatok). Irodalmi adatok alapján, a monilínia gomba a virágon keresztül nem fertőzte a vesszőket (Apostol, 2003; Rozsnyay, 2004; Szabó, 2004). Rezisztencianemesítésben fő génforrásként szerepel.

### 2.4.3. Virág- és ágelhalás, mézgásodás

Hazánkban a meggyfák virágfertőzését előidéző *Monilinia laxa*/*Monilia laxa* konídiumai a fán maradt gyümölcsmúmiákon, az előző évben fertőzött elhalt virágokon és a rákos sebekben fennmaradt sztrómákon már 5°C-on képződnek. Míg a *M. fructigena* csak ritkán okoz virágfertőzést, addig az Európai Unióban zárlati kórokozó a *M. fructicola* nagymértékű virágfertőzést képes előidézni. Kiss (2007) közlése alapján hazai ültetvényekben is okoz gyümölcsfertőzést, de a gomba által előidézett virágfertőzésről eddig nem jelent meg irodalmi adat. Hazánkban a meggyfák virágzásához szükséges hőösszeg időszakában már a *M. laxa* konídiumok sokasága található a légtérben. A virágfertőzéshez a megfelelő környezeti tényezők együttes létrejötte szükséges. A betegség előrejelzési rendszereket, ahogy számos más kórokozónál, úgy a *Monilinia* kórokozók esetében is kifejlesztették, feltérképezték a környezeti veszélyességi küszöbértékeket (Wilcox, 1988; Tamm et al., 1995; Kobal et al. 1997; De Cal és Melgarejo, 1999; Luo et al., 2001b).

A virág monilíniás fertőzését egy 1930-as leírás úgy mutatja be, hogy a bibe barnulása során feltételezi a kórokozó növénybe való behatolását (Kerekes, 1930). Apostol és Véghelyi (1992) adatai alapján a *Monilia* fertőzés esetében a pollen és a konídium "versenyt futnak" a magházig. A virág bibén keresztüli fertőzése széles körben elfogadott hipotézis (Weaver, 1950). Azonban Tzoneva és Tzonev (1999) kajszi *Monilia* virágfertőzését vizsgálták és megállapították, hogy a megporzás nem volt hatással a virágfertőzés kialakulásának gyakoriságára, tehát a virág a bibén keresztül kevésbé fertőződik. Halász (2007) és Gutermuth (2013) is azt tapasztalta, hogy a bibe egy intercelluláris folyadékkal meggátolja a konídium csírázását, illetve a kicsírázott konídium

növekedését. Ezek az anyagok az extracelluláris ribonukleázok, melyek az idegentermékenyítés megakadályozásán túl a bibe kórokozók elleni védelmében is szerepet játszanak. Így a virág megfertőzésében elsősorban a porzósál és a szíromlevelek fertőzésének van jelentősége, melyhez a spóra szél és esőcsepp segítségével jut (Ogawa és McCain, 1960). Hűvös, párás, csapadékos időjárás esetén ezeken a virág szerveken keresztül a kórokozó gombafonál akár 48 órán át képes bejut a vacokba és onnan a kocsányba (Weaver, 1950; Tamm et al., 1995; **2. ábra**).



**2. ábra** A meggy virágzás sematikus ábrája, bemutatva a *Monilinia laxa* fertőzést követő tüneteit. Tamm és munkatársai (1995) hat részre osztotta a virágfertőzési tüneteket: nincs tünet (1); virágszirom elhalás (2); virágkehely elhalás (3); a kocsány kevesebb mint 1/3-a elhalt (4); a kocsány több mint 1/3-a, de nem az egész kocsány halt el (5); az egész kocsány elhalt (6). A fertőzés azonnal leáll, ha a virágszirmot vagy a virágkelyhet idejében eltávolítják (2 és 3).

Meggynél szabadföldi körülmények között a pollentömlők a bibétől indulva 2-3 nap alatt érik el a bibeszál alapját, ugyanakkor a bibétől a magkezdemény eléréséig 6-8 nap telik el (Stösser és Anvari 1981). A bibeszál olyan szállítószövet, amely megnyúlt, plazmában gazdag sejtekből áll, intercellulárisai szénhidrátokban gazdagok, mely a szállítószövetekben található keményítővel együtt táplálja a pollentömlő növekedését (Stösser, 1980). A pollentömlő növekedésének szabályozásában a kalciumnak kiemelt szerepe van (Békefi, 2005). A magházban a kalcium koncentráció magas, a bibében alacsony, a bibeszálban tehát a kalcium gradiens felülről lefelé haladva növekszik. Ez a koncentrációgradiens kemotaxis jellegű inger a pollentömlő számára, ami biztosítja annak célirányos növekedését (Bognár, 2012). A magüreg felé való terelésben a kémiai ingerek mellett a víz- és elektromos potenciál különbségek is irányítják a folyamatokat. A megporzás időszakának a hossza fajtánként és évenként változik, valamint nagymértékben függ az időjárástól (Stösser és Anvari 1983). A kórokozó inkubációs ideje szempontjából is kiemelten

fontos az időjárási tényező (Biggs és Northover, 1988; Tamm et al., 1995). Luo és munkatársai (2001a) *M. fructicola* kórokozónál megfigyelték, hogy a sporuláció intenzitása és időtartama a nedvesség növekedésével nő. Hűvös, párás, csapadékos időben a fertőzés néhány óra alatt bekövetkezhet (Schweigert, 1996). Súlyosbítja a helyzetet az is, hogy hűvös időben a virágzás hossza tovább tart, mint melegebb időjárás esetén, így a fertőzés lehetősége is folyamatosan fennáll. A virág megfertőzésével a gombafonál a vacokon keresztül belenő a kocsányba, és a kocsányon át pedig a háncsszövetbe. Ezen kívül még azt a veszélyt is hordozza, hogy nemcsak az adott virágot képes megfertőzni, hanem a fertőzés átterjedhet a virágcsokor többi virágaira (Holb, 2008).

A meggyfajták általában fogékonyak, de jelentős különbségek vannak annak mértékét illetően. A fogékonyság mértékét a fa kora, általános erőnléte, és az alany is befolyásolja. A Bosnyákmeggy fajtakörnél a rezisztencia speciális esete fordul elő, a gazdanövény szöveti elhatárolással, „hisztogén demarkációval”, vagyis a beteg virág leválasztásával lokalizálja a kórokozót, ily módon megakadályozza a kórokozó továbbterjedését a szervezetben (Apostol és Véghelyi, 1992).

Ubrizsy (1965) leírása alapján is a bibe és a magház egy antibiotikus anyagot termel, mellyel megakadályozza a fertőzés kialakulását. A bibe reakciójának szövettani háttérével kapcsolatos leírást, irodalmat nem találtam. A cseresznye termékenyülési vizsgálatánál azonban különböző vizsgálatokat alkalmaznak a pollentömlő- növekedési folyamatainak feltárására (Békefi, 2005). Ehhez a szövettani vizsgálathoz először láthatóvá teszik a pollentömlőt. Linskens és Esser (1957) fedezték fel, hogy a pollentömlő falában lerakódó kallóz anilinkékkal megfesthető, mely ezt követően UV-fényben fluoreszcenciát mutat. A magkezdemény előregedését szintén kallóz lerakódás jelzi, mely UV fényben a pollentömlőhöz hasonló módszerrel megfestve fluoreszkál. Ezt a módszert többen adaptálták kis módosításokkal (Martin, 1959; Kho és Baer, 1968).

Az általános védekező rendszer állandó kémiai elemei a vegyületek széles körét ölelik fel (Dennis et al., 1997). Érsek (1979) szerint az egyes fajták ellenállósága a bennük felhalmozódó fitoalaxinek (növényi ellenanyagok) mennyisége szerint változik. A kórokozó által megtámadott növényi sejt hiperszenzitív reakciója (HR) során a sejt falában kallózképződés és ligninlerakódás is megfigyelhető. A fertőzés hatására a rezisztens növények szöveteiben a fenol vegyületek és egyéb másodlagos anyagcseretermékek halmozódnak fel. Ezek a vegyületek, amelyek a gazda -parazita kapcsolatkor keletkeznek, autofluoreszcenciára képesek, UV megvilágítás alatt jól fluoreszkálnak. A fluoreszcens fény mikroszkópi alkalmazásának az egyéb mikroszkópos módszerekkel szembeni előnye a nagyfokú érzékenység és gyorsaság (Kwon et al., 1993).

A moniliniás fertőzés során a kórfolyamat másik fontos része, hogy a kórokozó micéliuma a kocsányon át belenő a hajtások fás részébe. A háncsszöveten keresztül képes megfertőzni a fiatalabb ágakat is. Egy erősebb fertőzésnél az elfásodott hajtások és idősebb ágak elhalását is

okohatja. Tavasszal virágzáskor, illetve terméskötéskor észleljük, hogy a hajtások lankadnak, majd hirtelen hervadnak és elszáradnak. A fertőzött virágok, vagy a termékenyült kis gyümölcsök és levelek száradnak, de nem hullnak le, hanem a fán maradnak (Holb, 2007). A járványok idején 60 - 100%-os is lehet a virágpusztulás, ami 40-80%-ban a vesszők, majd a 2-3 éves gallyak károsodásához vezet (Rozsnyay, 2005).

A fertőzött fa kérge és az alatta lévő szövetek kezdenek elszíneződni, barnulni, elhalni. Ezen az elhalt beszáradt faszövetnél egy nyílt seb keletkezik a fás részekben és folyamatosan növekszenek (Ogawa és English, 1960). Ezek a rákos sebek a következő év inokulum forrásai lehetnek, s így járványügyi szempontból fontos elemek (Everhart et al., 2011).

A fertőzés útját a felszínre törő mézgascepp is jelzi. Az adott helyen a növény védőzóna létrehozásával lokalizálni próbálja a fertőzést, megakadályozni a fertőzés továbbterjedését. A mézgasodást nem a kórokozó vagy egy kártevő okozza, hanem a növényi életfolyamatokban bekövetkező változás kísérő tünete. A faszövetben a tápanyagot szállító edénnyalábok eltömődnek, bennük a nedvkeringés megszűnik. A cukorból és szerves savakból álló folyadék, a mézga megjelenik a növényi rész felszínén. A mézga nehezen folyó, erősen ragadó, fényes, barnás színű növényi gyanta. A mézga tehát nem más, mint a sejtfal bomlásakor enzim hatására képződő váladék, amely természetes védekezésként lezárja a sebeket, és megakadályozza a sérüléseken keresztül a kórokozók bejutását. A csonthéjas fákra különösen jellemző a mézgasodás, annak mértéke azonban nagyban függ az egyes fajták fogékonyságától is. Habár a növénytől ez a folyamat sok energiát igényel, megakadályozhatja, vagy legalábbis késlelteti a gyors fapusztulást.

## **2.5. Biológiai védekezés**

### **2.5.1. Biológiai védekezés antagonista gombákkal**

Napjainkban a biológiai természetből származó élelmiszerek iránt egyre nagyobb a kereslet. A figyelem középpontjába kerül az egészséges, tiszta környezet, valamint növekszik az érdeklődés a peszticid maradvány nélküli élelmiszerek iránt. Az ökológiai gazdálkodást folytatóknak azonban mindössze néhány kémiai növényvédő szer használata engedélyezett (Anon, 2000), ezek közé tartozik a réz, valamint a kén hatóanyagú szerek csoportja. Több vizsgálati eredmény is igazolja, hogy a monília elleni védekezés elemi kén tartalmú készítményekkel biztonságosan nem oldható meg (Chandler, 1974; Zehr et al., 1984; Thurzó és Dani, 2005). Jelenlegi tudásunk szerint, nincs a forgalomban olyan antagonista készítmény, amelyet az ökológiai gazdaságokban használhatnának a monília fertőzés ellen.

A biológiai növényvédelemben a kórokozókkal szembeni védekezésre olyan mikroorganizmusokat használnak, amelyek rendelkeznek antagonista tulajdonsággal, tehát képesek a parazita gombát elpusztítani, szaporodását gátolni és a növényt a fertőzéstől megvédeni. Azonban ezeknek az antagonista szervezeteknek szigorú elvárásoknak kell megfelelniük. Nem lehetnek patogének sem a megvédendő növényre, sem az emberre, sem a nem célzott szervezetekre, valamint a környezetben se okozhatnak károsodást. Elvárt, hogy az alkalmazott antagonista az alkalmazás helyén természetes körülmények között is előforduljon, kijuttatása ne veszélyeztesse a környezet természetes mikrobiótájának összetételét és arányát (Turóczy, 1999).

### **2.5.2. A *Monilinia* fajok elleni biológiai védekezési lehetőségek**

A meggy *moniliás* betegsége elleni első biológiai készítményt az 1950-es években fejlesztették ki. Megfigyelték, hogy a moniliával fertőzött állományokban is akadnak nemcsak egyes fák, hanem kisebb facsoportok is, amelyek folyamatosan többé – kevésbé mentesek maradtak a moniliától. Közelebbi vizsgálat kimutatta, hogy e fák virágaiban mind a bibén, mind a porzókön egy vadélesztő (*Candida* sp.) él. A virágokból izolált gombával, mint antagonistával végzett klímaházi és szabadföldi kísérletek azonban nem adtak kielégítő eredményt, viszont ösztönzőleg hatottak az ilyen irányú kísérletezésre. Előállították a „Tricin” néven ismert *Trichotecium roseum* nevű gomba antibiotikumot tartalmazó készítményt, és 50 mg/l koncentrációjú vizes oldatát alkalmazva a meggyfák monília fertőzöttségét 70 – 95%-kal csökkentette (Ubrizsy, 1965). Azóta a felhasználását betiltották, mint utóbb kiderült, e gomba által termelt trichotecin az egyik legveszélyesebb mikotoxin.

A *Monilinia* fajok okozta barna rothadás ellen alkalmaznak antagonista gombákat és baktériumokat. Az egyik ilyen *in vivo* és *in vitro* alkalmazásban is előforduló mikoparazita gomba az *Epicoccum nigrum* (Madrigal et al., 1991; Wittig et al., 1997; Larena et al., 2004; De Cal et al., 2009; Larena et al., 2010). Megállapították, hogy az *E. nigrum* alkalmazásával a *Monilinia* spp. konídiumai a gyümölcs felületén hasonló mértékben csökken, mint fungicid alkalmazásával (De Cal et al., 2009). Vizsgálatok folytak továbbá *Aspergillus flavus*, *Penicillium frequentans* és *P. purpurogenum* gombákkal, bár gyakorlati alkalmazásukat vitatják a szerzők (Melgarejo et al., 1986). Guijarro és munkatársai (2007) a *P. frequentans*-t alkalmazták *Monilinia* fajok ellen őszibarack és kajszi ültetvényben sikerrel. Sesan és Oprea (1999) kajszi fák kezelésénél alkalmazta *Monilinia laxa* ellen a *Trichoderma viride* és a *Sordaria fimicola* gombákat, melyek erős antagonista hatást mutatottak, s rajtuk kívül az *Epicoccum purpurascens* is hatásosnak bizonyult.

Pusey és munkatársai (1988) a *Bacillus subtilis* egyik törzsét alkalmazta őszibarackon a barnarothadás ellen. A *Bacillus* nemzetségen kívül a *Pseudomonas* nemzetségbe találtak olyan

baktérium törzseket, amelyek erős antagonista hatással bírnak a *Monilinia fructigena*, a *M. laxa* és a *M. linhartiana* kórokozókkal szemben. Truklja (2000) megállapította, hogy az antagonista hatás leginkább a szaprotróf baktérium szuszpenzió koncentrációjától függ.

Alkalmazták továbbá *M. laxa* kórokozó ellen a *Pseudozyma fusiformata*, a *Metschnikowia sp.* és az *Aureobasidium pullulans* törzseit (Wittig et al., 1997; Zhang et al., 2010a; Zhang et al., 2010b). Megállapították, hogy az antagonista aktivitása a sejt koncentrációjától függ, tehát mikor az antagonista koncentrációját növelték, akkor az *M. laxa* spóracsírázása arányosan csökkent.

### 2.5.3. A *Clonostachys rosea* antagonista bemutatása és alkalmazási területe

Törzs: *Ascomycota*

Osztály: *Sordariomycetes*

Rend: *Hypocreales*

Család: *Bionectriaceae*

Nemzetség: *Clonostachys*

Faj: *Clonostachys rosea f. rosea*

Ezt a szaprotróf gombát korábban úgy ismerhettük, hogy *Gliocladium roseum* Bainer, azonban a tipikus *Gliocladium* fajoktól - mint a *G. penicilliodes* - elkülönül morfológiában, ökológiában, telepmorfológiában és DNS szekvenciában is. Így rendszertanilag átkerült a *Clonostachys* nemzetségbe és *Clonostachys rosea* (Link:Fr.) (Schroers et al., 1999) néven azonosították. Ivaros alakja a *Nectria ochroleuca* (Schwein.) Berk, az aszkuszos gombákhoz tartozik.

Mesterséges tenyészetben általában lassú növekedésű, a sporulációja diffúz vagy koncentrikus körökbe rendezett. A telep színe változó, lehet fehéres, narancsos vagy lazac színű. Konídiumaik egysejtűek, aprók, amelyek kétféle típusú, vagy a *Penicillium* fajokéra hasonlító, ecsetszerű, vagy a *Verticillum*-szerű, örvös állású konídiumtartókon képződnek. A *Verticillum*-szerű a primer konídiumtartók, míg a később képződők *Penicillium* típusúak. A konídiumok először nyálkás csomókban, majd összetapadt oszlopokban képződnek. Az apró konídiumok hosszúkásak, az idősebb tenyészetekben klamidospórák és szkleróciumszerű hifakötegek is képződnek (Rehner és Samuels, 1994; Yu és Sutton, 1997).

A *C. rosea* gyakori szereplője különböző biológiai védekezéssel foglalkozó kísérleteknek. Növénypatogén és szaprotróf gombákkal szembeni antagonista tulajdonsága, a mikoparazitizmusra először Barnett és Lilly (1962) figyelt fel. A fent említett faj különböző növénykórokozók ( *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phomopsis sclerotioides*, *Colletotrichum spp.*, *Rhizoctonia solani*, *Phoma spp.*, *Pythium spp.*, *Phytophthora spp.*, *Fusarium* fajok) képes

parazitálni (Papavizas, 1985; Vajna, 1987; Gindrat et al., 1997; Li et al., 2002; Zimowska, 2004; Chatterton és Punja, 2009; Zivkovic et al., 2010; Rodriguez et al., 2011).

A *C. rosea* rendkívül elterjedt a Földön. A művelt területektől a sivatagig, mindenütt előfordulhat, gyakran előfordul a talajban *Heterodera* és *Globodera* fajok cisztáiban. A szintén talajban lévő *Sclerotinia sclerotiorum* szkleróciumaival a mikoparazita tevékenységen túl, másodlagos anyagcseretermékekkel, a peptaibolok termelésével képes ezt a kórokozó gombát gátolni (Rodríguez et al., 2011).

A *Botrytis cinerea* elleni vizsgálatok során több gazdanövényen (szamóca, málna, gerbera, muskátli, ciklámen, paradicsom, uborka és egyéb dísznövényeken) alkalmazták már az antagonistát (Sutton et al., 1997, Cota et al., 2008b). Sonsteby (2002) megállapította, hogy a kezelések hatására a rothadt szamóca bogyók száma szignifikánsan csökkent. A leghatékonyabb eredményt az integrált védekezéssel érték el, mely során alkalmaztak *C. rosea* izolátumot, fungicid kezelést és ezen kívül a növényi maradványt rendszeresen eltávolították (Cota et al., 2009). Tanulmányuk azonban felveti, hogy a kémiai kontroll gátolja a biológiai kontrollt, így véleményük szerint fungicid rezisztens antagonista szelektálása lenne a legalkalmasabb az integrált védekezésben. Szintén a *B. cinerea* sporulálásának a csökkenését figyelték meg az antagonistával való kezelést követően rózsán (Morandi et al., 2003).

A *C. rosea* parazitálását *B. cinerea* kórokozó gombán fénymikroszkóppal, transzmissziós elektron mikroszkóppal és scanning elektron mikroszkóppal is megvizsgálták (Yu és Sutton, 1997; Li et al., 2002). Felvételeiken jól látható, hogy a *C. rosea* hifája elkezd nőni, majd körülöleli, behatol és fejlődik a *B. cinerea* hifájába és konídiumába. Megállapították továbbá, hogy a behatolást a hifacsúcs appresszorium képzése nélkül viszi véghez. Walker és Maude (1975) viszont az appresszorium formák jelenlétéről számol be *B. alli* kórokozónál. Li és munkatársai (2002) megállapították továbbá, hogy a *C. rosea* úgy fertőzi a *B. cinerea* kórokozót, hogy az antagonista hifája mechanikai erővel képes a sejtfalat mint akadályt legyőzni a fertőzési folyamat során. Habár széles körben alkalmazzák a *C. rosea* antagonistát, *Monilinia spp.* elleni alkalmazásáról kevés adat található.

## 2.6. Fungicid érzékenység

### 2.6.1. Kémiai védekezési lehetőségek

Vizsgálatok igazolják, hogy évjáráttól függően jelentős különbségek tapasztalhatók a monilíniás virág- és hajtáselhalás mértékében, ezért az integrált védekezésnek az időjárás és a fenológiai előrejelzésén kell alapulnia. Ezzel pontosan meghatározható a permetezések száma és időzíthető a kijuttatás járványos években, ugyanakkor elkerülhető a felesleges környezetterhelés is a



kórokozó számára kedvezőtlen években (Holb, 2004). A fungicidok alkalmazásából álló védekezés menetét három fő – növényfenológiától függő – fázisra bonthatjuk:

Az első védekezést nyugalmi állapotban szükséges elvégezni. A súlyos virágfertőzések megelőzésének egyik lehetséges módja az inokulum mennyiség csökkentése, nyugalmi állapotban alkalmazott fungicidok kezeléseivel (Wicks, 1981). Az összes csonthéjas gyümölcsfa nyugalmi állapotban bármilyen hatékony fungiciddel kezelhető, legyenek ezek fém réz hatóanyagú vagy fémmentes készítmények. Figyelmet érdemel azonban az őszibarack, melynél a permetezések, tekintet nélkül a permetezőszere, a rügyfakadást észrevehetően késleltették. Más csonthéjasokon hasonló jelenséget nem írtak le (Csorba et al., 1943).

A második védekezést rügyfakadáskor, illetve virágzáskor szükséges elvégezni. A bimbós állapotban, virágzás előtt és szíromhulláskor alkalmazott vegyszeres kezelésekkal sikeresen megvédhetők a meggy virágai a monília megbetegedéstől (Glits és Folk, 2000). A rügyattanáskor végzett védekezést fagymentes időszakban nagy lémenységgel végezzük. E lemosó permetezést kitavaszkodástól függően egyszer, vagy kétszer is elvégezhetjük, még fehérbimbós állapotban is. A virágzás a vegyszeres növényvédelem szempontjából a legfontosabb szakasz. Ekkor már a gomba konídiumai nagy tömegben vannak jelen. A számukra kedvező hűvös, párás, csapadékos, ködös időben a fertőzésveszély óriási. A megfelelő védelemhez célzott permetezés, permetezések szükségesek. Az elsőt mindenképpen még megelőzési céllal fehérbimbós állapotban el kell végezni, majd a virágzás végén, szíromhulláskor megismételni. A virágfertőzés megakadályozása kulcsfontosságú, mivel ha a *M. laxa* bejut a virágon keresztül a hajtásba, vesszőkbe, akkor a további fungicidok kezelése eredménytelenek lesznek és akár még száraz időjárás esetén is megjelenhetnek a hajtáselhalás tünetei (Guido és Thomas, 2006). A két kezelés közötti időjárástól, a virágzás hosszától és a szerek hatástartamától függ, hogy szükség van-e közbeeső védekezésre (Mező és Schweigert, 2005).

A harmadik kezelést elvirágzás után kell elvégezni, amelynek célja a gyümölcskezdemény megvédése, s így a későbbi gyümölcsrothadás megelőzése. Legfontosabb a rágókártevők elleni védekezés, mert azok kapukat nyitnak a gombakórokozó behatolásához. A gyümölcs érésének idején alkalmazott kezelés során az élelmezés-egészségügyi várakozási időt figyelembe kell venni (Sallai, 2004). Szüret után át kell nézni a fákat, hogy milyen mértékben található virág - és hajtásszáradás. Ezeket a száradó vesszőket, ágakat mielőbb el kell távolítani.

A cseresznye és meggy *Monilinia* ellen 2012-ben alkalmazható készítmények a Mellékletek 1. táblázata tartalmazza (Ocskó, 2012).

## 2.6.2. A vizsgálatba vont hatóanyagok és hatásmechanizmusuk

A vizsgálatba vont hatóanyagok egy része ma is engedélyezett (és a gyakorlatban általánosan használt). Más részük ma már nem engedélyezett, de a kórokozók izolálásának évében és a vizsgálat elvégzésekor még engedélyezettek voltak és nagy mennyiségben használták monília megbetegedés ellen. A vizsgálatokba vont hatóanyagokat (Valovics, 2010) az alábbiakban foglalom össze:

- A *kaptán* a ftálimid származékok közé tartozik, kontakt szer, széles hatásspektrumú vegyület. Nem fitotoxikus, preventív fungicid. A permetlével érintkezve a kórokozó spórái felveszik a hatóanyagot és az a tiolcsoportok megkötésével a glicerin-aldehid-3-foszfát-dehidrogenáz működését gátolja (www.arysta-agro.hu).
- A *benomil* a mikrotubulusok összekapcsolásának gátlásában játszik szerepet. A tubulin gén pontmutációjával könnyen kialakulhat rezisztencia a hasonló hatású fungicidek ellen. (Faretra és Pollastro, 1991; Davidse és Ishii, 1995). Engedélyét 2007-től visszavonták.
- A dikarboximid (*iprodion, procimidon, vinklozolin*) fungicidek a sejtfal szintézisét befolyásolják, továbbá indukálják a micéliális sejtek glicerol akkumulációját (Leroux, 1996). Fő hatóhelyük valószínűleg azok a protein kinázok, amelyek a poliol szintézisének szabályozásában vesznek részt (Pillonel és Meyer, 1997). Botriticid szerként is ismerték őket. Mindhárom hatóanyag engedélyét 2007-től visszavonták, egyedül az iprodion engedélyezett Rovral Aquaflo néven.
- A *fenarimol* és a *pirimetanil* kémiai pirimidin-származékok. Szisztémikus szerek. Hatásmechanizmusuk a spórákban az ergoszterin-szintézis gátlásában és a appresszóriumok képződésének gátlásában nyilvánul meg. A pirimetanil ma is engedélyezett, azonban a fenarimol csak uborkában maradt alkalmazható.
- A *triadimefon* heterociklikus vegyület, szisztémikus fungicid. Itt is az ergoszterolszintézis gátlásával a sejtfal hibás, működésképtelen formájának kialakulásához vezet, ami a spórák csírázásának, a micéliumok fejlődésének visszatartásában és a spóráképződés gátlásában is megnyilvánul (Loch és Nosticzius, 2004). Engedélyét 2004-ben visszavonták.
- A *boscalid* az anilidek csoportjába tartozik, szisztémikus szer. A hatáshelye és hatásmódja is különbözik a strobilurinokétól és szinte minden más gombaölőszertől. Gátolja a gombák szukcinát-ubikinonreduktáz enzimjét, ami kulcsfontosságú a gombák anyagcseréjében. Ezáltal sikeresen akadályozza meg a gombák növekedését is. A szer a növénybe való felszívódás után transzlamináris (a levél színéről a fonákára) és akropetális (csúcsi) irányba mozog. Kiemelkedő preventív (megelőző) védelmet nyújt, mivel erősen gátolja a gombaspórák csírázását. Kuratív hatása is kiemelkedő (BASF, 2012). Engedélyezett készítmény.
- A *réz* szervesetlen hatóanyag, kontakt, több hatáshelyű készítmény.

### 2.6.3. Fungicid hatékonyság különbségek

Már az 1970-es években felismerték, hogy a rendszeres fungicid használat rezisztenciát válthat ki, s ez a növények védelme szempontjából nagy kihívás. A hatóanyagokkal szembeni rezisztencia kutatások megszorodtak. Az Európai Unió is szigorította a peszticidekkel kapcsolatos rendelkezéseket, sokat betiltottak, más vegyszerek betiltását előre jelezték, türelmi időt határoztak meg velük szemben. A rezisztencia kialakulásának következtében új hatóanyagú fungicidok jelentek meg. Ezek a korábbiaknál átlagosan legalább egy nagyságrenddel kisebb mennyiségben alkalmazva is hatásos védelmet biztosítanak. A különböző hatásmódú fungicidok kombinált vagy változtatott alkalmazásával csökkenthető a szelekciós nyomás, de lassítja a rezisztencia kialakulását a szinergista együtthatókra és a kontraszelektív hatásokra való törekvés is (Josepovits, 1991).

Az egyes fungicidok hatékonysága azon múlik, hogy a célzott szervezetek, a kórokozók mennyire érzékenyek rá, valamint az alkalmazott dózis a jelen lévő populációra hatásos-e. A hasonló szerkezetű, hasonló helyen ható vagy azonos módon detoxifikálható hatóanyagok között keresztrezisztencia kialakulása is lehetséges. Ennek következménye, hogy a peszticid fejlesztés és a hatékony kémiai védelem között állandó versenyfutás van. A rezisztencia eltérő eséllyel alakul ki az egyes hatóanyagcsoportokra (Darvas, 1999), s kialakulásukban biokémiai, genetikai, és epidemiológiai tényezők is szerepet játszhatnak.

A rezisztencia biokémiai tényezőjeként a hatáshellyel kapcsolatos változásokat állapítottak meg. Ezen belül nem mindig a hatáshely affinitásának csökkenéséről van szó, hanem létrejöhet valamilyen kompenzáló vagy elkerülő mechanizmus is, amely megelőzi vagy elhárítja az elsődleges gátlás következményeit. A hatóanyag felvételének vagy metabolizmusának megváltozása is idézhet elő rezisztenciát. A receptorok megváltozásának a specifikusan ható fungicidok esetében van jelentősége (Josepovits, 1991).

A genetikai változásokat két fő típusba sorolják. Az egyik esetben egy gén mutációja a fungicidérzékenység lényeges csökkenését okozza, míg a poligén mutáció esetében egymással kapcsolatban lévő minor géneken bekövetkező mutációk hatása összegeződik, s így fokozatosan hozza létre az érzékenység megváltozását. A két típus a szelekció módjában is eltér egymástól (Skylakakis, 1982). A legtöbb fungicidnál egyetlen, sejtmagi gén mutációja eredményezi a rezisztenciát. Az viszont, hogy ilyen mutáció egy vagy több lókuszban következik-e be, már fungicidféleségtől függően változik. Ha több gén mutációja fungicid rezisztenciát okoz, akkor a gének rekombinálódása és additív kölcsönhatása a toleranciaszint ugrásszerű növekedéséhez vezethet. Amennyiben adott fungiciddal szembeni rezisztenciát két vagy több gén szabályoz, ezek dominanciája teljesen eltérő lehet.

Epidemiológiai szempontból nagyon fontos az eltérő módon kialakult rezisztencia, hiszen így a megelőzéséhez és az elhárításához is más megoldást kell találni.

A fungicid rezisztencia kialakulásnak elkerülését úgy tudjuk elérni, ha a fungicideket más hatóanyagokkal kombinációban, különböző módon juttatjuk ki. A FRAC (Fungicide Resistance Action Committee) továbbá ajánlja, hogy el kell kerülni ugyanannak a fungicidnek az ismételt alkalmazását, keverni kell hozzá illő fungiciddel, korlátozott számban és időben kell kijuttatni, az előírt dózist kell alkalmazni, valamint nem kémiai módszerekkel kombinálni (Brent és Hollomon, 2007). A kombinációban alkalmazott fungicidek segítenek lassítani a rezisztencia szelekciós folyamatokat és gondoskodnak a már megjelent rezisztens törzsek ellenőrzéséről. Hazai tapasztalatok szerint a fungicidekkel szembeni érzékenység csökkenés összefüggésbe hozható az évenkénti védekezések számával, persze kétségtelenül többéves folyamat következménye a rezisztencia kialakulása (Kaptás, 1994).

## 3. ANYAG ÉS MÓDSZER

### 3.1. Izolátumok származása, azonosítása és ökofiziológiai tulajdonságuk

#### 3.1.1. Az izolátumok gyűjtése és tárolása

A vizsgálatokhoz használt 69 izolátumot Magyarország különböző termőhelyeiről, kilenc különböző gazdanövényről és különböző növényi részeiről gyűjtöttük 2002 és 2006 között (**2. táblázat**). A termőhelyek között volt ültetvény, közterület és családi ház kertje. A *Monilinia fructicola* izolátumot a Jász–Nagykun-Szolnok Megyei Növény- és Talajvédelmi Igazgatósága gyűjtötte, a Központi Károsító Diagnosztikai Kutató Központ izolálta és azonosította, és a Csongrád Megyei Biológiai védekezési és karantén fejlesztési laboratórium bocsájtotta rendelkezésemre, a Központi Növény-, Talaj- és Agrárkörnyezetvédelmi Igazgatóság engedélyével.

Az izolátumok leoltása során egy izolálási helyről (gyümölcsről, hajtásról, virágról) rendszerint 3 darab mintát vettünk steril lándzsatűvel, amelyeket Petri-csészébe PDA táptalajra helyeztünk el egymástól egyenlő távolságra, háromszög alakban. Az inkubálás 20°C-on nappali megvilágítás mellett történt.

Rendszerint a három mintából kialakuló telepek különböző telepmorfológiával és növekedési sebességgel bírtak, ezért törekednünk kellett tiszta tenyészetek létrehozására. E célból egy Petri-csészéből csak a *M. laxa* kórokozóra leginkább jellemző telepmorfológiát mutató mintákat oltottuk tovább. Az esetleges átfertőzés veszélye miatt, ezt a továbboltott mintát paradicsom-agar (140 g 22-24 ref.%-os paradicsomsűrítmény konzerv, 10 g glükóz, 20 g agar, 1000ml csapvíz) táptalajon 5 °C-on sporuláltattuk, s az így képződött konídiumok szélesztéséből nyertünk immár tiszta tenyészeteket, melyek a további vizsgálatok, illetve kísérletek alapjául szolgáltak. Az így előállított izolátumokból tartós preparátumot készítettünk. A tárolás kémcsőben, ferde agaron, paraffin olaj alatt történt 5°C-on.

**2. táblázat:** Az izolátumok neve, gazdanövénye, növényi része, a származási helye és a gyűjtés ideje, valamint az elvégzett vizsgálat típusa.

Izolátum név	Gazdanövény	Növényi rész	Hely	Évszám	Vizsgálatok			
					genetikai variabilitás	patogenitás vizsgálat	antagonista vizsgálat	fungicid érzékenység
Sz1	kajszi	gyümölcs	Kunmadaras	2004	+			+
Sz2	meggy	gyümölcs	Kunmadaras	2004	+		+	
Sz3	meggy	gyümölcs	Kunmadaras	2004				+
Sz5	cseresznye	gyümölcs	Dunaföldvár	2004	+	+		+
Sz6	kajszi	gyümölcs	Kunmadaras	2004	+			+
Sz7	őszibarack	gyümölcs	Kunmadaras	2004				+
Sz8	alma	gyümölcs	Kunmadaras	2004	+		+	+
Sz9	kajszi	gyümölcs	Kunmadaras	2004				+
Sz10	cseresznye	gyümölcs	Tiszabura	2004		+	+	+
Sz12	szilva	gyümölcs	Kunmadaras	2004	+			
Sz13	kajszi	gyümölcs	Kunmadaras	2004		+	+	+
Sz14	meggy	ág	Tiszabura	2004	+	+		
Sz19	cseresznye	gyümölcs	Vasvár	2002	+			+
Sz20	meggy	gyümölcs	Vasvár	2002	+			+
Sz22	meggy	gyümölcs	Vasvár	2002				+
Sz23	meggy	gyümölcs	Vasvár	2002				+
Sz26	meggy	virág	Zalaszentgrót	2004		+	+	
Sz27	meggy	gyümölcs	Vasvár	2002				+
Sz28	kajszi	gyümölcs	Szombathely	2002				+
Sz30	meggy	gyümölcs	Szombathely	2002				+
Sz31	kajszi	gyümölcs	Vasvár	2002				+
Sz32	meggy	gyümölcs	Szombathely	2002				+
Sz33	meggy	gyümölcs	Szombathely	2002				+
Sz34	cseresznye	gyümölcs	Vasvár	2002				+
Sz35	alma	hajtás	Gödöllő	2004	+		+	
Sz37	birsalma	hajtás	Szada	2004	+			
Sz38	mandula	hajtás	Érd Elviramajor	2004	+			
Sz40	mandula	hajtás	Érd Elviramajor	2004	+	+	+	+
Sz41	mandula	hajtás	Érd Elviramajor	2004				+
Sz42	mandula	hajtás	Érd Elviramajor	2004				+
Sz43	mandula	hajtás	Érd Elviramajor	2004	+			
Sz44	mandula	hajtás	Érd Elviramajor	2004	+			
Sz46	mandula	hajtás	Érd Elviramajor	2004		+	+	

Izolátum név	Gazdanövény	Növényi rész	Hely	Évszám	Vizsgálatok			
					genetikai variabilitás	patogenitás vizsgálat	antagonista vizsgálat	fungicid érzékenység
Sz47	mandula	hajtás	Érd Elviramajor	2004				+
Sz53	alma	gyümölcs	Gödöllő	2004	+			
Sz54	meggy	gyümölcs	Budapest	2005	+			+
Sz55	meggy	hajtás	Budapest	2005				+
Sz65	kajszi	hajtás	Budapest	2005		+		
Sz66	meggy	hajtás	Budapest	2005	+	+		
Sz70	kajszi	gyümölcs	Kunmadaras	2005	+			
Sz71	kajszi	gyümölcs	Kunmadaras	2005	+			+
Sz72	kajszi	gyümölcs	Kunmadaras	2005	+			
Sz75	kajszi	gyümölcs	Kunmadaras	2005	+			
Sz78	kajszi	gyümölcs	Kunmadaras	2005	+			+
Sz 80	körte	gyümölcs	Kunmadaras	2005		+		
Sz81	körte	gyümölcs	Kunmadaras	2005	+			+
Sz83	körte	gyümölcs	Kunmadaras	2005	+			+
Sz86	szilva	gyümölcs	Kunmadaras	2004	+			
Sz87	szilva	gyümölcs	Kunmadaras	2005	+			+
Sz89	szilva	gyümölcs	Kunmadaras	2005	+			+
Sz90	kajszi	gyümölcs	Zsámbok	2005	+			+
Sz96	alma	gyümölcs	Zsámbok	2004	+			
Sz100	meggy	gyümölcs	Érd Elviramajor	2006		+		
Sz101	meggy	gyümölcs	Érd Elviramajor	2006		+		
Sz128	meggy	gyümölcs	Kunmadaras	2007	+			
B1	szilva	gyümölcs	Kisvárd	2004	+			+
B3	szilva	gyümölcs	Kisvárd	2004				+
B5	szilva	gyümölcs	Kisvárd	2004	+			+
B6	szilva	gyümölcs	Kisvárd	2004	+	+		
B12	szilva	gyümölcs	Kisvárd	2004	+			+
B20	alma	gyümölcs	Kisvárd	2004	+			+
B22	szilva	gyümölcs	Kisvárd	2004		+	+	
B25	szilva	gyümölcs	Kisvárd	2004	+			
B28a	őszibarack	gyümölcs	Kisvárd	2004	+			+
B28b	őszibarack	gyümölcs	Kisvárd	2004		+		+
B32	meggy	gyümölcs	Kisvárd	2004				+
FC1	kajszi	gyümölcs	Csongrád megye	2006	+			
FC2	őszibarack	gyümölcs	J-N-Szolnok megye	2006	+			
FC4	szilva	gyümölcs	Vas megye	2006	+			
Cr ( <i>C. rosea</i> )	<i>Botrytis cinerea</i>	szőlő	Szekszárd	2005			+	

### **3.1.2. Az izolátumok azonosítása hagyományos diagnosztikai módszerekkel**

#### **Konídium méret**

A különböző gazdanövényekről származó izolátumokat 5°C-on sporuláltattuk majd a képződött konídiumokból preparátumot készítettünk. A konídiumok méretét digitális kamerával felszerelt fénymikroszkóppal (50x nagyítás) határoztuk meg úgy, hogy az egyes preparátumokról felvételeket készítettünk, majd ezeken számoltuk össze és mértük meg a kifejlődött konídiumokat. Mintánként véletlenszerűen kiválasztva 50 konídiumot mértünk meg. A hossz- és szélesség mérési adatokból szórást számoltunk. A konídiumok átlagos hosszát és szélességét a gazdanövények alapján is csoportosítottuk. A vizsgált izolátumok konídium méret-tartományát úgy állapítottuk meg, hogy az átlagos hossz- és szélesség adatokat a szórással korrigáltuk.

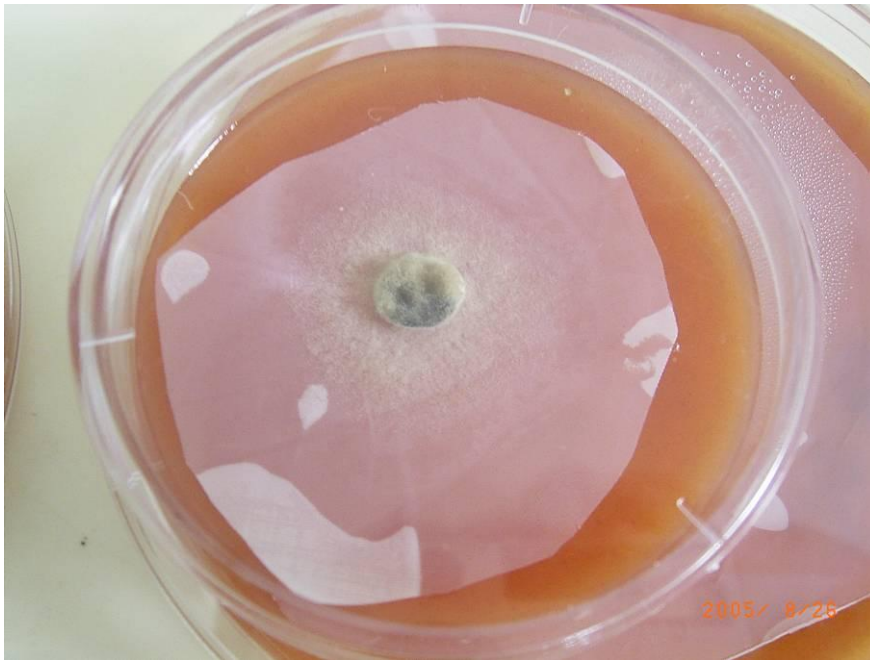
#### **Növekedési sebesség**

Az előállított tiszta tenyészetekből 6 mm átmérőjű korongvágóval steril körülmények között azonos nagyságú darabokat vágunk ki, s ezeket Petri-csésze közepére helyezve szobahőmérsékleten tároltuk, nappali megvilágítás mellett. A telepátmérő mérését 24 óránként végeztük, 6 napon keresztül, milliméter pontossággal. Az eredményeket gazdanövényenként átlagoltuk, a szórást meghatároztuk.

### **3.1.3. Molekuláris azonosítás specifikus primerekkel**

A faj szintű azonosításához a hagyományos mikológiai diagnosztikai módszeren túl (Lane, 2002), specifikus PCR technológiát is alkalmaztunk. Paradicsom agar táptalajra steril szitaszövetet helyeztünk, és az arra oltott micéliumból 20 mg-ot használtunk fel (**3. ábra**) DNS kivonáshoz.





**3. ábra** Paradicsom agar táptalajon steril szitaszöveten növekvő *Monilinia laxa* izolátum.

A micéliumot mozsárban folyékony nitrogén hozzáadásával porítottuk, majd 200 µl TE puffer (1M Tris pH 8,0; 1M EDTA pH 8,0) és 400 µl lízispuffert adtunk hozzá, és 10 percig 65 °C-on inkubáltuk. A fehérjék eltávolításához 600 µl kloroformot használtunk. A nukleinsavat precipitációs folyadékban (Fermentas) kicsapattuk 2 perces 10000 fordulatot centrifugálással. A pelletet 1,2 M NaCl-ban feloldottuk, majd 96%-os etanolba -20 °C-on 30 percig tartottuk és 4 percig 10000 fordulaton a DNS –t kicsapattuk. Ezt követően a pelletet 70%-os etanolban mostuk, majd szárítást követően 50 µl 20 µg/ml RNase-t tartalmazó pufferbe oldottuk vissza. A minták koncentrációját spektrofotométeres méréssel határoztuk meg (Biorad, Smart Spec Plus Spectrometer), s a végkoncentrációt 50 µg/µl –re állítottuk be.

A DNS kivonást követően Ioos és Frey (2000) által meghatározott faj-specifikus primereket alkalmaztunk a PCR eljárás során. A 25 µl össztérfogatú PCR-hez az alábbiakat mértük össze:

- 50 ng DNS minta,
- 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>
- 2,5 µl 10x puffer
- 1 U Taq polymeráz
- 100 µM dNTP
- 1 µM minden ITS1 és ITS4 primer

valamint az össztérfogat eléréséhez steril PCR vizet használtunk. A negatív kontroll nem tartalmazott DNS-t.

Ioos és Frey (2000) által meghatározott faj-specifikus primerek szekvenciái az alábbiak voltak:

*M. laxa* ITS1 (TATGCTCGCCAGAGAATAATC),  
ITS4 (TGGGTTTTGGCAGAAGCACACC),  
*M. fructigena* ITS1 (CACGCTCGCCAGAGAATAACC),  
ITS4 (GGTGTGTTTTGCCAGAAGCACACT),  
*M. fructicola* ITS1 (TATGCTCGCCAGAGGATAATT),  
ITS4 (TGGGTTTTGGCAGAAGCACACT).

A PCR eljárásához PCR System 2007 (Applied Biosystem) típusú készüléket használtunk. A reakció körülményeit a következők voltak: kezdő denaturáció 5 perc 94 °C-on, majd 30 cikluson át 30 mp 94 °C-os denaturálás, 30 mp 65 °C-os primer kötés és 90 mp 72 °C-os lánchosszabbítás, majd ezt követően a záró inkubálás 7 perc 72 °C-on. A PCR termékeket elektroforézissel 1,5%-os agaróz gélen elválasztottuk, 0,5xTBE pufferben 50V-on 50 percen keresztül. A gélt ethídium-bromiddal (koncentráció: 10mg/μl) festettük és UV megvilágításban fényképeztük (BIORAD Laboratories F1-F2 Fuses type T2A Milan, Italy). Az eljárást kétszer megismételtük.

## **3.2. A *Monilinia* fajok genetikai variabilitása**

### **3.2.1. A *Monilinia* fajok genetikai diverzitás vizsgálata**

A *Monilinia* fajok fajon belüli és fajok közötti genetikai diverzitás tanulmányozásához 45 izolátummal végeztünk iSSR vizsgálatokat (Fan et al., 2010). A vizsgálatba vont izolátumok közül 24 *M. laxa*, 20 *M. fructigena* és egy *M. fructicola* (**4. táblázat**). Öt mikroszatellit primert: (GAG)<sub>4</sub>RC, (CAC)<sub>4</sub>RC, (GTG)<sub>5</sub>, (GATA)<sub>4</sub>, (GTC)<sub>5</sub>, és két miniszatellit primert: M13 (Heath et al., 1993) T<sub>3</sub>B (McClelland et al., 1992) használtunk. A primereket önállóan, nem kombinációban alkalmaztuk.

A 25 μl össztérfogatú PCR-hez az alábbiakat mértük össze:

50 ng DNS minta,  
1.5 mM MgCl<sub>2</sub>  
2,5 μl 10x puffer  
1 U Taq polymeráz  
100 μM dNTP  
1 μM primer

valamint az össztérfogat eléréséhez steril PCR vizet használtunk. Negatív kontrollt is készítettünk, DNS felhasználása nélkül.

A PCR eljárás ez esetben is a PCR System 2007 (Applied Biosystem) típusú készülék alkalmazásával történt a következő program szerint: kezdő denaturáció 3 perc 94°C-on, majd 38 cikluson át 30 mp 94°C-os denaturálás, 30 mp 55°C-os primer kötés és 30mp 94°C-os lánchosszabbítás, majd ezt követően a záró inkubálás 7 perc 72°C-on. A PCR termékeket elektroforézissel 1,5%-os agaróz gélen elválasztottuk, 0,5xTBE pufferben 50V-on 50 percen keresztül. A gélt ethídium-bromiddal festettük (koncentráció: 10mg/μl) és UV megvilágításban fényképeztük (BIORAD Laboratories F1- F2 Fuses type T2A Milan, Italy). Az eljárást minden izolátum esetében háromszor megismételtük.

### 3.2.2. Adatelemzés

A PCR eljárást követően kapott mintázatot oly módon értékeltem, hogy meghatároztam az egyes termékek méretét. Bináris kóddal fejeztem ki a termék meglétét vagy hiányát. Az adatokat mátrixba rendeztem, és a Treecon programcsomagot felhasználva (Van de Peer és De Wachter, 1997) UPGMA módszerrel dendogramot készítettem.

Meghatároztam a teljes populáció genetikai diverzitását ( $H_T$ ), a szubpopuláció ( $H_S$ ) és a szubpopulációk közötti diverzitás ( $D_{ST}$ ) alapján (Nei, 1987; Takezaki és Nei, 1996):

$$H_T = H_S + D_{ST}.$$

A teljes populáció genetikai differenciájára vonatkozóan kiszámoltam a gén differencia koefficiens (Nei, 1987):

$$G_{ST} = D_{ST} / H_T.$$

Ahol  $G_{ST}$  értéke 0.0 (a szubpopulációk között nincs különbség) és 1.0 (teljesen azonos a szubpopulációban és teljesen különbözik a szubpopulációk között).

A fajon belüli és fajok közötti, továbbá az ültetvényen belüli és az ültetvények közötti variabilitást százalékszámítással fejeztem ki ( $a/b * 100$ , ahol  $a$ = azon izolátumok száma, ahol egy adott PCR termék megjelent,  $b$ = a fajon belüli összes izolátum száma), majd az értékek számtani közepét vettem.

Jelen dolgozatban a populáció alatt az egyes *Monilinia* fajokat, míg a teljes populáció alatt a három *Monilinia* faj együttesét értem. Szubpopuláció alatt a faj alatti csoportosulást tárgyalom.

### **3.3. A *Monilinia* izolátum agresszivitásának és a meggyfajták fogékonyságának vizsgálata**

#### **3.3.1. A vizsgálathoz használt izolátumok és meggyfajták**

A kísérletekhez 15 *Monilinia* izolátumot használtunk, melyek közül öt meggyről (Sz14, Sz26, Sz66, Sz100, Sz101), kettő manduláról (Sz40, Sz46), kettő szilváról (B6, B22), kettő kajsziról (Sz13, Sz65), kettő cseresznyéről (Sz5, Sz10), egy őszibarackról (B28b), egy pedig körtéről (Sz8) származott (**4. táblázat**), hogy szélesen reprezentálva legyenek a gazdanövények. Az izolátumok közül a körtéről származó *M. fructigena*, a többi pedig *M. laxa*.

A vizsgálatokat az Állami Gyümölcs - és Dísznövény termesztési Kutató- Fejlesztő Közhasznú Nonprofit Kft kísérleti területén Elviramajorban végeztük a következő meggyfajtákkal: Érdi bőtermő, Újfehértói fürtös, Kántorjánosi 3, Cigánymeggy 59, Érdi jubileum, Pándy 279 és a Csengődi.

#### **3.3.2. Mesterséges fertőzés bibén keresztül, *in vitro***

A bibefertőzéshez a már említett hét meggyfajtaról még fehérbimbós állapotban lévő vesszőket gyűjtöttük be. 1%-os vizes-agar lemezt készítettünk (Honty et al., 2004), melyet a párolgás csökkentése érdekében letakartuk alufóliával. Ezt követően a virágokat a teljes kinyílás előtt kocsányuknál fogva ráhelyeztük az alufóliával letakart vizes-agar lemezre, melyet behelyezésnél átszúrtunk (**4.ábra**). Laboratóriumban a virágzási sorrend az alábbiak szerint alakult: Érdi bőtermő, Pándy 279, Kántorjánosi 3, Újfehértói fürtös, Cigánymeggy 59, Csengődi és az Érdi Jubileum.



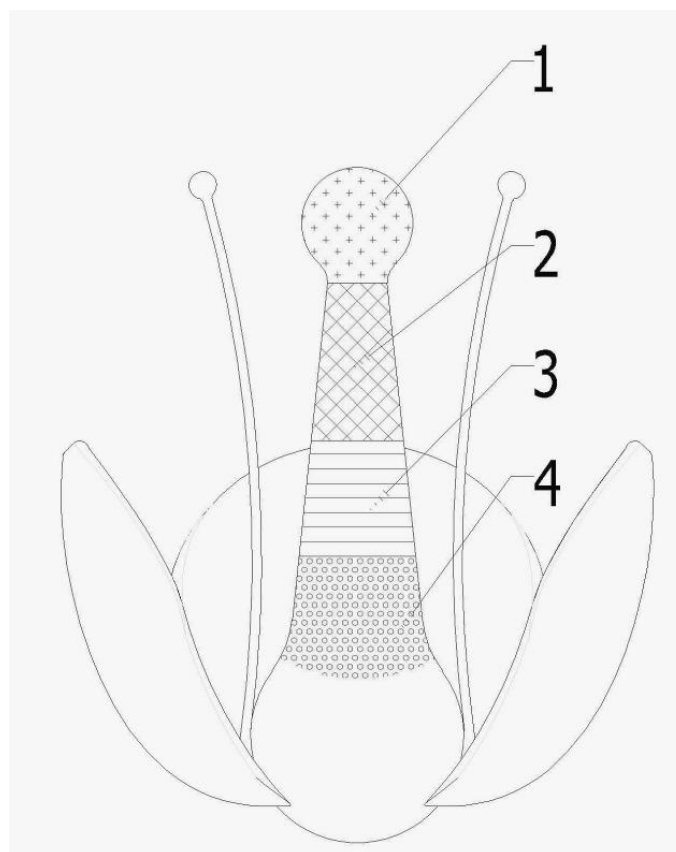
**4. ábra** Mesterséges bibefertőzés *in vitro*

A mesterséges fertőzést öt különböző csonthéjas gazdanövényről származó *M. laxa* izolátum konídiumainak a kevert szuszpenziójával végeztük el. Ezek az alábbiak voltak: Sz10, Sz13, Sz14, Sz46, B22. A konídiumok három hónapig 5°C-on paradicsomos-agar táptalajon képződtek, s ezt szuszpendáltuk 1,5 ml desztillált vízbe. A konídium koncentrációját Bürker – kamrával mértük meg és minden izolátumnál  $5 \cdot 10^6$  sejt/ml koncentrációra állítottuk be (Ubrizsy és Vörös, 1968).

Amikor a bibe tetején megjelent a termékenyülésre kész állapotot jelző szekrétumcsepp elvégeztük a mesterséges fertőzést (Stösser, 1980). Minden bibére Pasteur-pipettával egy csepp konídium szuszpenziót cseppentettünk. Ezt követően a virágokat klímakamrában inkubáltuk (22°C, 87%-os páratartalom, valamint állandó megvilágítás mellett). A kísérletet fajtánként és gomba izolátumonként 12, a kontrollt pedig 4 ismétlésben állítottuk be.

Az értékelést a kezelést követő 3 egymást követő napon végeztem, amely során a bibe elhalását vizuálisan mértem (**5. ábra**). A 0 értéknél a bibe egésze zöld, egészséges. Az 1-es értéknél a bibe teteje elbarnult. A 2-es értéknél a bibe a tetejétől lentebb, a bibeszál negyedéig elbarnult. A 3-as értéknél a bibe közepéig elbarnult. A 4 értéknél az egész bibe elhalt.

Az eredményeket kéttényezős varianciaanalízissel értékeltem.



**5. ábra** Skála - Bibeelhalás mértékének megállapítására alkalmazott skála: Az 1-es értéknél a bibe teteje elbarnult. A 2-es értéknél a bibe a tetejétől lefelé, a bibeszál negyedéig elbarnult. A 3-as értéknél a bibe közepéig elbarnult. A 4-es értéknél az egész bibe elbarnult.

### 3.3.3. Bibeszövet vizsgálat

A bibefertőzés szövettani vizsgálata során, a bibe tetejére került pollen és konídium szuszpenziókra adott növényi szövetreakciót vizsgáltuk különböző időintervallumokban. Feltételeztük, hogy a nagyobb ellenállósággal rendelkező fajta több antifungális anyagot termel, ami anilinkékkal megfestve nagyobb fluoreszcenciát mutat. Ezt a kísérletet az Érdi bőtermő, a Pándy 279 és a Cigánymeggy 59-es fajtákon végeztük el. A mesterséges megporzást és a konídiummal történő fertőzést az alábbiak szerint végeztük:

A virágokat fehérbimbós állapotban gyűjtöttük be. A kinyílt virágokból a portokokat eltávolítottuk, hogy az önporzás ne történhessen meg. A Pándy 279 ugyan önmeddő fajta, de az inkompatibilitásra adott szöveti reakció miatt itt is elvégeztük az eltávolítást (Békefi, 2005). A kasztrált virágokat 1%-os vizes-agar táptalajra helyeztük a kocsányánál fogva. Egy nap múlva a bibéken megjelentek a szekrétaumcseppek.

Az Érdi bőtermő és a Cigánymeggy 59 fajtákról vettünk portokot, és a Pándy 279 esetében ez utóbbi adta a beporzó alanyt. A pollensuszpenziót úgy készítettük, hogy a portokot mozsárba helyeztük és 20%-os glicerint csepegtettünk rá. Ezt követően óvatos keveréssel megpróbáltunk

minél több pollent „leáztatni” a portokról. (A mozsár falához való dörzsölés, mint technika nem alkalmas a pollen szuszpenzió készítéséhez, mivel a portokban lévő pollen teljesen szétroncsolódik.)

A konídiumszuszpenziót 6 különböző gazdanövényről származó izolátum (Sz10, Sz13, Sz26, Sz40, B22, B28b) konídiumának a keverékéből készítettük a 3.3.2. fejezetben leírtak alapján. A virág bibéjén kialakuló szekrétrumcsepp megjelenésekor a pollenekből és a gombakonídiumokból készített szuszpenziót Pasteur pipettával a bibe tetejére cseppentettük. Ezt követően 1, 2, 4, 8, 12, 21, 24, 48 órával 70%-os FPA fixáló oldatot tartalmazó fiolákba szedtük a bibéket, kocsánnyal együtt. A 70%-os FPA oldat 1:1:8 arányban formaldehidet, propionsavat, etil-alkoholt tartalmazott. A fixáló oldatban levő virágokat 4°C-on tároltuk.

A vizsgálatokhoz kétféle preparátumot készítettünk:

- I. Quetsch preparátumot.
- II. Gyantába ágyazott preparátumot.

I. A szövettani vizsgálatokhoz az ún. Quetsch preparátumokat Preil (1970) módszere alapján készültek az alábbiak szerint:

1. A virágok folyó csapvízben (5dl/perc vízcseré) 1 órán keresztül tisztultak meg a fixáló oldattól (**6. ábra**).
2. Ezt követően 18 órán keresztül 8 M NaOH oldatban álltak,
3. A virágok folyó csapvízben 6 órán keresztül tisztultak meg a tömény lúgoldattól.
4. A pollentömlők és a hifák megfestéséhez a virágok legalább 24 órára 0,1% anilinkék és 0.1 N  $K_3PO_4$ -ból készített oldatba álltak.
5. A mikroszkópos vizsgálatokhoz a termőt a virágból eltávolítottuk. A bibeszálat a magházzal leválasztottuk, és egy csepp glicerin kíséretében a tárgylemezre helyeztük. A bibeszálat a fedőlemez ráhelyezésekor enyhén szétnyomtuk (**7. ábra**).





**6. ábra** A bibék mosása folyó csapvízzel.



**7. ábra** Kontroll Cigánymeggy 59 fajta (bibe, magház, vacok, kocsány) Quetsch preparátumban



II. A gyantába ágyazott preparátumok LR White kittel (Fluka 62662) az alábbiak szerint készültek:

1. 100ml gyantához 1,98g katalizátort adtunk és 24 órán keresztül szobahőmérsékleten rázatva homogenizáltuk. A beoldás után 4°C-on hűtőszekrényben tároltuk.

2. A virágokat 30 percre tiszta alkoholba helyeztük, s 10 percenként összeráztuk (3 ismétlésben), így tisztultak meg a fixáló oldattól.

3. Ezt követően az előpolimerizáció során a már elkészített gyantát ráöntöttük a virágokra. Majd ezt leöntve a második gyantában 18 óráig tároltuk.

4. A polimerizáció 24 órán át tartó 60°C-os vízfürdőben történt.

5. A mikrotommal 5 – 25µm-es metszeteket készítettünk.

A Quetsch és a gyantába ágyazott preparátumokat Olympus BX50 típusú mikroszkóppal fluoreszcens megvilágítással vizsgáltam. Minden preparátumról fényképet készítettem, majd a fluoreszcencia mértékét Canon Digital Photo Professional (Ver. 2.2) szoftverrel értékeltem. Mivel a fluoreszcens értéke egy szórt tartományt mutatott, így az értékeket a 192 – 256 korrigált fluoreszcencia értéknél adtam meg, melyet a tartomány alapján a program számolt ki.

### **3.3.4. Mesterséges ágfertőzés, *in vitro***

Vizsgáltuk a *Monilinia* izolátumok agresszivitását, valamint a meggyfajták érzékenységét, a hánccszövetben keletkezett nekrotikus tünetek nagyságának mértéke alapján. Az *in vitro* vizsgálatokat a már említett hét meggyfajtán végeztük el intenzív növekedési időszakban, virágzáskor április végén, valamint nyugalmi időszakában október végén. A kísérletek beállításához 9 *M. laxa* és egy *M. fructigena* izolátumot használtunk, melyeket korábbi kísérleti eredmények patogenitási adatai alapján választottunk ki.

Az intenzív növekedési időszakban, azaz virágzáskor végzett mesterséges fertőzési kísérlethez április végén gyűjtöttük be a fertőzésre alkalmas vesszőket a meggyfajtákról. Körülbelül azonos hosszúságú (50 cm) egyenes, egészséges ágakat választottunk, melyekről ezután óvatosan eltávolítottuk a virág- és levélkezdeményeket. A mesterséges fertőzést a *Cytospora* gombánál alkalmazott módszerrel végeztük el (Rozsnyay és Apostol, 2000). Az ágakon lyukfúróval 6 mm átmérőjű sebeket fűrtünk. A sebekbe 6 mm átmérőjű 8 napos micélium kultúrát helyeztünk az alábbi izolátumokból: Sz5, Sz13, Sz14, Sz26, Sz46. A fertőzésre nedves vattát helyeztünk, s parafilmmel rögzítettük. Az ágakat nedves kvarchomokkal töltött nagy méretű üvegpoharakba helyeztük, a kísérlet során elpárologtatott vizet rendszeresen pótoltuk. Fajtánként és gomba izolátumonként 4-4 ágdarabot fertőztünk (**8. ábra**). A fertőzött ágdarabokat 20-22 °C-on 12 napig

inkubáltuk. Az értékeléskor a fertőzés helyén kialakult hánccselhalás mértékét mértük le, amit cm-ben fejeztünk ki.



**8. ábra** Virágzási időszakban végzett *in vitro* mesterséges ágfertőzés Érdi jubileum meggyfajtán Sz13 izolátummal.

A nyugalmi állapotban végzett fertőzésekhez 2 éves ágakat használtunk amit lombhulláskor szedtünk meg. A laboratóriumban 10-15 cm hosszúra vágott a fentiekben leírtak szerint fertőztük meg. A kísérletben az alábbi izolátumokat használtuk: Sz46 , Sz65, Sz66, B6, Sz80. Az ágdarabokat nedves homokba, cserépbe tettük (**9. ábra**). Az ágdarabok tetejét kiszáradás ellen alufóliával fedtük be. A kontroll ágdarabokat szintén kilyukasztottuk, nedves vattával és parafilmmel befedtük. Fajtánként és gomba izolátumonként 10-10 ágdarabot fertőztünk. A fertőzött ágdarabokat 20-22 °C-on 35 napig inkubáltuk, folyamatos öntözés mellett. Az értékeléskor eltávolítottuk a hánccselhalást és cm-ben adtuk meg a nekrosis hosszát.



9. ábra Nyugalmi állapotban végzett *in vitro* mesterséges ágfertőzés

### 3.3.5. Mesterséges ágfertőzés, *in vivo*

A szabadföldi mesterséges ágfertőzést 2006 és 2007 -ben Érd – Elviramajorban végeztük el. A vizsgálatban a már fent leírt hét meggyfajta szerepelt. Az intenzív növekedési időszak két különböző időpontjában végeztük a fertőzéseket. 2006-ban április 18-án, közvetlen virágzás után, illetve néhány fajtánál teljes virágzásban. Az időjárás párás, csapadékos volt (Léghőm.átlag: 13,75°C; Légned.átlag: 76,8%; havi csap.átlag: 44,85mm). 2007-ben június 6-án, a gyümölcserés közepén végeztük a mesterséges fertőzéseket. Ebben az évben a virágzaskori időjárás meleg volt, a virágzás gyorsan véget ért (Léghőm.átlag: 15,6°C; Légned.átlag: 66%; Havi csap.átlag: 38,6mm).

Fajtánként 4 -4 fát fertőztünk. 2006-ban az Sz46 (mandula) és az Sz100 (meggy) *M. laxa* izolátumokkal, 2007-ben megismételtük a fertőzést az Sz101 (meggy) *M. laxa* izolátummal. Mindkét évben az Sz 80 körtéről származó *M. fructigena* izolátummal is végeztünk mesterséges fertőzéseket.

A mesterséges fertőzés módszere: a kiválasztott 2 éves gally vékony kérgét szikével kb. 1 – 1,5 cm hosszban eltávolítottuk és a gomba 8 napos tenyészetéből, 6mm átmérőjű micélium korongokat vágunk ki és ráhelyeztük a vágott felületre, vizes vattával fedtük, s végül parafilmmel

rögzítettük. A kontroll esetében a sebekre csak nedves vattát helyeztünk, amit szintén parafilmmel rögzítettünk.

Az értékelést, mindkét évben a fertőzést követő 43. napon végeztük, mivel ekkora a fertőzést jól lehetett látni. A fertőzés helyén a kérget eltávolítottuk és megmértük a gomba által a háncsszövetben okozott nekrozis hosszirányú kiterjedését.

A mesterséges fertőzések helyén a különböző meggyfajtákon eltérő erősségű mézgásodást figyeltünk meg az értékelések során.

Az adatokat kéttényezős varianciaanalízissel értékeltem.

### **3.3.6. A fertőzött háncsszövet vizsgálata fluoreszcens mikroszkóppal**

2006 és 2007 évben szabadföldön mesterségesen fertőzött ágrészeket levágtam és FPA oldatban fixáltam (FPA oldat = 1:1:8 arányban = formaldehid: propionsav: etil-alkohol). Az értékelést a bibevizsgálatnál leírtak szerint végeztem.

## **3.4. *Clonostachys rosea* mikoparazita alkalmazása**

### **3.4.1. A vizsgálatához használt izolátumok**

A kísérletekhez 2004 évből különböző gazdanövényről és növényi részről származó *Monilinia* izolátumokat használtunk: Sz2, Sz8, Sz10, Sz13, Sz26, Sz35, Sz40, Sz46, B22. Az Sz8 és az Sz35 almáról, az Sz80 körtéről származó izolátum *M. fructigena*, míg a többi vizsgálatba vont izolátum *M. laxa*.

A vizsgálatokhoz használtunk egy *Clonostachys rosea* izolátumot, melyet szőlőt fertőző *Botrytis cinerea* gombáról tenyésztettük ki. Ezt követően a morfológiai bélyegei alapján azonosítottuk.

### **3.4.2. Antagonista hatásvizsgálat**

A *C. rosea* antagonista mikoparazita aktivitását és antibiotikum termelését tanulmányoztuk *M. laxa* és *M. fructigena* kórokozókkal szemben. A hiperparazitizmus vizsgálatát maláta- agar táptalajon (1 l víz, 10 g maláta, 20 g agar, 10 g glükóz; sterilizés 121°C-on 15 percig) végeztük. Az interakciót a *M. laxa*, a *M. fructigena* és a *C. rosea* között vizsgáltuk (**10. ábra**). A vizsgálatokhoz az alábbi izolátumokat használtuk: Sz2 (meggy), Sz8 (alma), Sz46 (mandula) és Sz80 (körte).

*Clonostachys rosea* + *Monilinia laxa*



**10. ábra** A *Clonostachys rosea* és a *Monilinia laxa* interakciójának vizsgálata maláta- agar táptalajon

8 nap elteltével mikor a két gomba hifái megközelítették annyira egymást, hogy szabad szemmel jól láthatóan összeértek, akkor a találkozás helyéről mikroszkópos preparátumot készítettem. A micéliumok tetejére glicerint és anilinkéket cseppentettem és fedőlemezzel befedtem, majd Olympus BX50 típusú mikroszkóppal vizsgáltam.

Az antibiotikum termelés vizsgálatánál az antagonista gombát folyékony paradicsomos közegben (70 g 22-24 ref. % sűrített paradicsom + 500ml csapvíz) tenyésztettük. A fermentált folyadékot 8 nap inkubációt követően steril szűrőn (0,2 µm) leszűrtük. A szűrletet paradicsom-agar táptalajhoz kevertük (10% v/v) és petri csészébe öntöttük. *M. laxa* és a *M. fructigena* inokulumokat oltottuk rájuk és 25 °C-on inkubáltuk.

A növekedést egy hétig mértem, és az izolátumokat összehasonlítottam a normál paradicsom-agar táptalajon való növekedési sebességgel.

### 3.4.3. Mesterséges bibefertőzés vizsgálat antagonistával, *in vitro*

A bibefertőzési vizsgálatokat az Érdi Gyümölcs - és Dísznövény Kutató - Fejlesztő Kht. kísérleti területéről Elvira majorból származó meggyfajtákkal végeztük: Cigánymeggy 59, Csengődi, Érdi bőtermő, Érdi jubileum, Kántorjánosi 3, Pándy 279 és az Újfehértói fürtös.

A teljes virágzás előtti virágokat a kocsányuknál fogva 1%-os vizes agar táptalajra helyeztük (Honty et al., 2004). A mesterséges bibefertőzést a 3.3.2. fejezetben leírtak alapján végeztük. A *C. rosea* antagonista konídium szuszpenzióját  $5 \cdot 10^6$  sejt/ml koncentrációra állítottuk be desztillált víz segítségével. A *Monilinia* konídium szuszpenzióban az alábbi izolátumok konídiumai találhatóak meg: Sz10 (cseresznye), Sz13 (kajszi), Sz26 (meggy), Sz40 (mandula) és B22 (szilva). Az ebből készített konídium szuszpenziót  $6 \cdot 10^6$  sejt/ml koncentrációra állítottuk be. A kísérletet az alábbi kórokozó - antagonista kombinációkban állítottuk be, 4 ismétlésbe:

1. csak *C. rosea* konídium szuszpenziót helyeztünk a bibére (Cr (egyedül)),
2. csak *M. laxa* illetve *M. fructigena* konídium szuszpenziót helyeztünk a bibére (M(egyedül)),
3. *C. rosea* és azonos időben *Monilinia* konídium szuszpenziót helyeztünk a bibére (Cr azonos időben M),
4. *C. rosea* és a 24h később *Monilinia* konídium szuszpenziót helyeztünk a bibére (Cr 24h M előtt),
5. *C. rosea* és a 48h később *Monilinia* konídium szuszpenziót helyeztünk a bibére (Cr 48h M előtt),
6. a kontroll esetében a bibére desztillált vizet helyeztünk (K).

Ezt követően a virágokat klímakamrában helyeztük (22°C-os hőmérsékletet, 87%-os páratartalmat, valamint állandó megvilágosítást biztosítottam).

Az értékelés a 3.3.2. fejezetben a **5 ábra** alapján leírtak szerint történt. Az eredményeket kéttényezős varianciaanalízissel értékeltem, és a Melléklet 20. és 21. táblázatában szemléltettem.

### 3.4.4. Mesterséges gyümölcsfertőzés vizsgálat antagonistával

A gyümölcsfertőzési vizsgálatokat konvencionális ültetvényből származó azonos nagyságú Golden alma megfertőzésével végeztük. 6 mm átmérőjű korongvágóval sebést ejtettünk 4-5 mm mélységben a gyümölcsön. A fertőzés során paradicsomos táptalajon fejlődő *M. laxa* (Sz2, Sz46) és *M. fructigena* (Sz8, Sz35) 6 napos micéliumából 6 mm átmérőjű micéliumkorongot vágunk ki és a már kivágott gyümölcshús helyére tettük. Az inokulációt követően lefedtük parafilmmel és



szobahőmérsékleten tároltuk. A kórokozó által okozott nektrózist az inkubációt követő nyolcadik napon mértük, és kiszámoltuk a nektrózis területét.

A kísérletet az alábbi kórokozó-antagonista kombinációkba állítottuk be:

1. csak *C. rosea* micéliumkorongot helyeztünk a sebzésbe (Cr (egyedül)),
2. csak *M. laxa* illetve *M. fructigena* micéliumkorongot helyeztünk a sebzésbe (M(egyedül)),
3. *C. rosea* és azonos időben *Monilinia* micéliumkorongot helyeztünk a sebzésbe (Cr azonos időben M),
4. *C. rosea* és a 24h később *Monilinia* micéliumkorongot helyeztünk a sebzésbe (Cr 24h M előtt)
5. *C. rosea* és a 48h később *Monilinia* micéliumkorongot helyeztünk a sebzésbe (Cr 48h M előtt)
6. a kontroll esetében steril dugófúróval kifúrtuk az almát és a sebzést parafilmmel lefedtük inokulum nélkül (K) (**11. ábra**).



**11. ábra** A kontroll kezelés, melyen inokulum nélkül csak sebzés történt

Az eredményeket a **Melléklet 22., 23. és 24. táblázatában** szemléltetem. Az értékelést kéttényezős varianciaanalízissel végeztem.

### 3.5. A *Monilinia* izolátumok fungicid érzékenysége

#### A vizsgálatba vont izolátumok és a vizsgálat módszere

A fungicid érzékenység vizsgálathoz 42 *M. laxa* és *M. fructigena* izolátumot használtunk, melyek 8 különböző gazdanövényről és hazánk különböző termőhelyein lévő ültetvényekből származtak (Mellékletek 2. táblázat).

Az izolátumok fungicid érzékenységét 10 különböző hatóanyaggal (készítménnyel) szemben vizsgáltuk. Réz (Cuproxat FW), iprodion (Rovral 50 WP), fenarimol (Rubigan 12 EC), procimidon (Sumilex 50 WP), kaptán (Orthocid 50 WP), triadimefon (Bayleton), vinklozolin (Ronilan DF), benomil (Fundazol), pirimetanil (Mythos) és boscalid (Cantus).

A hatóanyagokból 10000 ppm-es törzsoldatot készítettünk (hatóanyagra vonatkoztatva), Worthing és Hance (1991) adatai alapján kiválasztott oldószerrel (alkohol, aceton, illetve víz) Az 1%-os oldathoz szükséges anyagmennyiséget és oldószert az **3. táblázat** tartalmazza.

**3. táblázat:** A fungicid érzékenységi vizsgálat során használt hatóanyagokból készített 10000 ppm-es törzsoldathoz szükséges anyagmennyiség és oldószer.

hatóanyag, készítmény	oldott anyagmennyiség	oldószer
procimidon, Sumilex 50WP	2g	100ml alkohol
iprodion, Rovral 50 WP	4g	100ml aceton
kaptán, Orthocid 50 WP	2g	100ml aceton
fenarimol, Rubigan 12EC	8g	100ml aceton
triadimefon, Bayleton 25WP	4g	100ml alkohol
pirimetanil, Mythos 30 SC	4g	100 ml aceton
boscalid, Cantus	2g	100ml aceton
vinklozolin, Ronilan DF	2g	100ml aceton
tribázikus rézszulfát, Cuproxat FW	10g	100ml víz
benomil, Fundazol 50WP	2g	100ml aceton

A törzsoldatból 100 $\mu$ l-t cseppentettünk a táptalaj (paradicsom agar) felületére a gomba inokulummal szemközt, s mértük az izolátumok növekedését, valamint a kialakuló gátlási zónákat. Ezekből az eredményekből határoztuk meg a második és a harmadik vizsgálandó koncentrációt (**4. táblázat**), melyek során táptalaj-mérgezéses eljárást használtunk (Baroffio et al., 2003). A fungicideket a steril 60°C-ra lehűtött táptalajba mértük be. A mérgezett táptalaj közepére helyeztük a dugófúróval kivágott 5 mm-es inokulumdarabokat. A gomba életbemaradását, illetve növekedését 6 nap után értékeltük. Valamennyi tesztet 2 ismétlésben végeztük el.

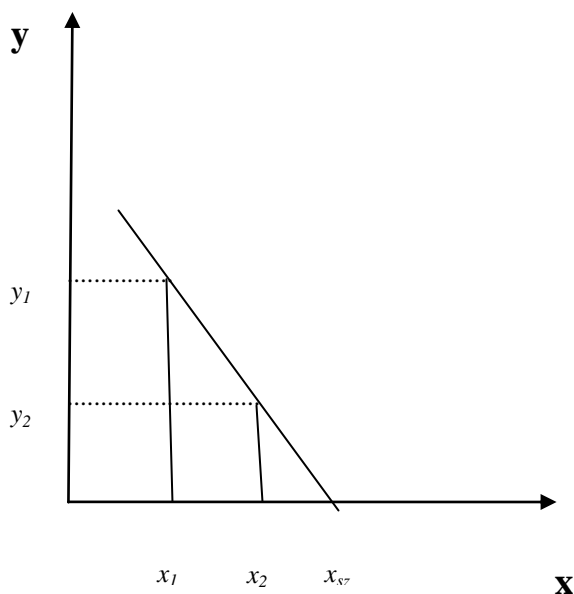


**4. táblázat:** A fungicid érzékenységi vizsgálatok során alkalmazott hatóanyag koncentrációk

koncentráció, ppm		
kaptán	10	20
vinklozolin	3	10
procimidon	3	5
triadimefon	3	10
iprodition	2	5
fenarimol	1	5
benomil	2	5
pirimetanil	3	50
boscalid	3	50
réz	20	200

**Adatelemzés**

A fungicid érzékenység vizsgálat során a telepek alakja rendszerint ellipszis, ritkán kör alakú volt. A telep nagyságának meghatározásához a hosszúságot és a szélességet mértem, így a területet a  $T_{\text{ellipszis}} = a \cdot b \cdot \pi / 4$  képlet alapján számoltam. Az eredményeket minden esetben a kezeletlen kontroll növekedéséhez viszonyítottam, annak százalékában adtam meg. A teljes gátláshoz szükséges legkisebb koncentráció (Minimal Inhibitory Concentration - MIC) (Andrews, 2001) – kiszámításához meghatároztam az  $x_1$ ,  $x_2$  koncentráció-változókhoz (pl.: 1 ppm és 5 ppm) tartozó  $y_1$ ,  $y_2$  terület-értékekre illesztett egyenes zérushelyét (lineáris összefüggést feltételez) (**12. ábra**).



**12. ábra** A fungicid érzékenységi vizsgálatnál a teljes gátláshoz szükséges (MIC) legkisebb koncentráció, az x tengelyen jelzi a zérus helyét ( $x_{sz}$ ). Y tengelyen a terület ( $\text{mm}^2$ ), x tengelyen a koncentráció (ppm) van megadva.

Az alábbi képletet használtam:

$$x_{sz} = \frac{y_2 x_1 - y_1 x_2}{y_2 - y_1}$$

ahol:

$x_1$  - a kisebb hatóanyag koncentráció (ppm)

$x_2$  - a nagyobb hatóanyag koncentráció (ppm)

$y_1$  - az  $x_1$  hatóanyag koncentrációhoz tartozó  $T_{\text{ellipszis}}$  érték ( $\text{mm}^2$ )

$y_2$  - az  $x_2$  hatóanyag koncentrációhoz tartozó  $T_{\text{ellipszis}}$  érték ( $\text{mm}^2$ )

$x_{sz}$  - a teljes gátláshoz szükséges legkisebb koncentráció (ppm)

Az adatok alapján meghatároztam az izolátumok relatív érzékenységét. Ehhez kiszámoltam az összes fungicid koncentrációhoz tartozó gátlás mértékét minden izolátumnál és összehasonlítottam a kontroll terület adatokkal. Az eredmények alapján az izolátumokat magas (HS), közepes (MS) és alacsony (LS) érzékenységük szerint csoportosítottam (Leroux et al., 1999).

$$\text{relatív érzékenység} = \frac{\Sigma \text{MIC}_{\text{átlag}} * T_{\text{kontroll}}}{100}$$

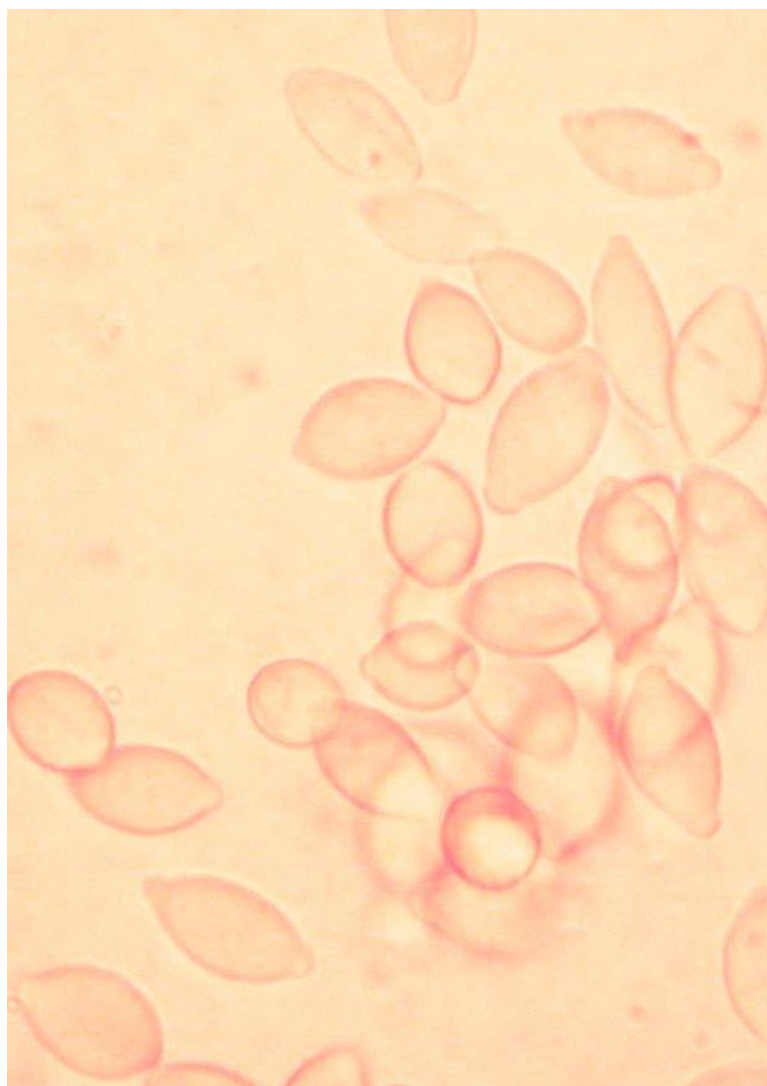
## 4. EREDMÉNYEK

### 4.1. Izolátumok azonosítása

#### 4.1.1. Azonosítás hagyományos diagnosztikai módszerekkel

##### Konídium mérettartomány

A láncokba lefűződő egysejtű konídiumok alakja citrom alakú (**13. ábra**). Az azonos gazdanövényekről származó izolátumok konídium-mérettartományait úgy állapítottuk meg, hogy az átlagos hossz- és szélességadatokat a szórással korrigáltuk (**5. táblázat**). A mért konídiumok átlagos hosszúsága 13,01 $\mu$ m, átlagos szélessége pedig 6,62 $\mu$ m. A legnagyobb konídium méretet a körtéről származó *M. fructigena* izolátumoknál, a legkisebbet pedig a meggyről származó *M. laxa* izolátumok esetében mértünk. Az eredmények a szakirodalomnak megfelelőek (Wormald, 1954; Ubrizsy, 1965; Batra, 1991, van Leeuwen et al., 2000)



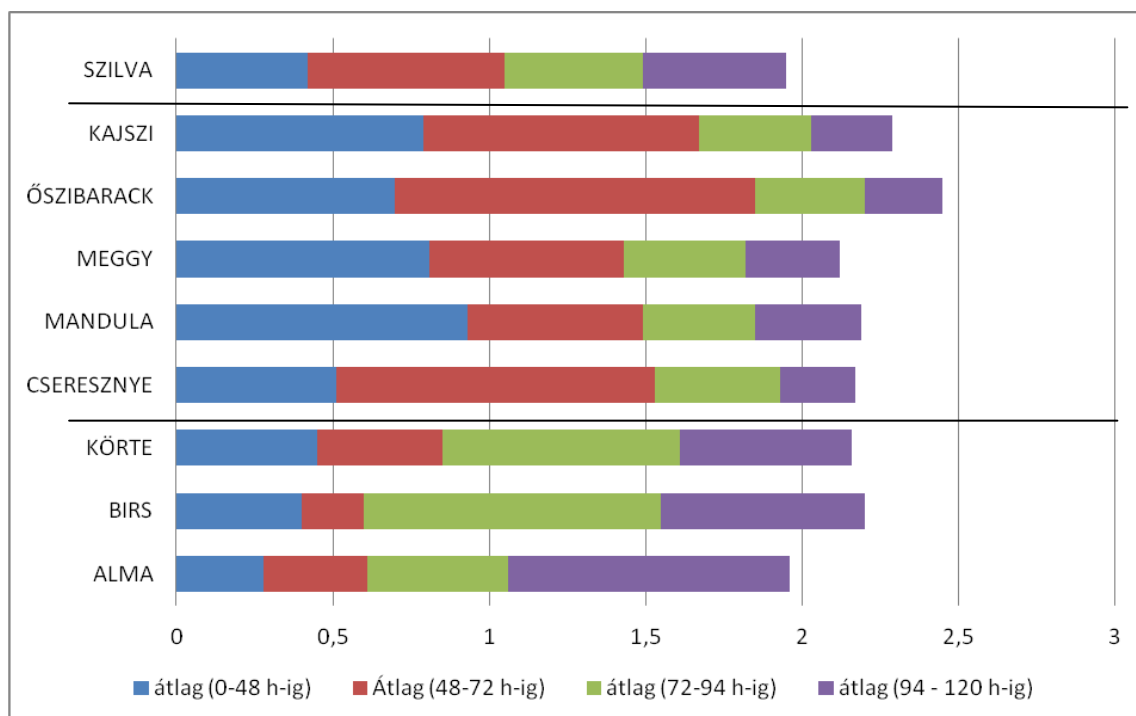
**13. ábra** Az Sz2 *Monilinia laxa* izolátum citrom alakú konídiumai

**5. táblázat:** A vizsgált izolátumok konídium mérettartományai, gazdanövényeik alapján csoportosítva

Gazdanövény	Konídium hosszúság, $\mu\text{m}$	Konídium szélesség, $\mu\text{m}$
ALMA	13,2 - 16,3	7,8 - 8,7
BIRS	12,7 - 13,4	8,8 - 8,9
KÖRTE	13,9 - 17,0	8,3 - 8,8
CSERESZNYE	10,7 - 12,9	4,0 - 6,9
MEGGY	10,0 - 13,6	4,1 - 6,3
ŐSZIBARACK	11,2 - 14,2	4,8 - 5,0
KAJSZI	10,8 - 13,6	4,3 - 5,1
SZILVA	11,3 - 14,7	6,7 - 8,6
MANDULA	10,2 - 14,5	5,0 - 7,2

### Növekedési sebesség jellemzése

A izolátumok növekedési ütemét 24 órás periódusokban követtük figyelemmel. A Mellékletek 3. táblázatában foglaltuk össze az izolátumok átlagos növekedési ütemét gazdanövényenként. Az adatok grafikusán a **14. ábrán** láthatók. A meggyről, a manduláról, a cseresznyéről, a körtéről és a birsről származó izolátumok telepmérete 120 óra után közel azonos, 2,37-2,45 cm. A vizsgálat során a szilváról (B12) és az almáról (B20) származó izolátumok telepmérete lett a legkisebb; 2,19 és 2,20 cm. Az őszibarackról (B28a) és a kajsziról (Sz28) származó izolátumok telepmérete lett a legnagyobb; 2,70 cm és 2,54 cm.

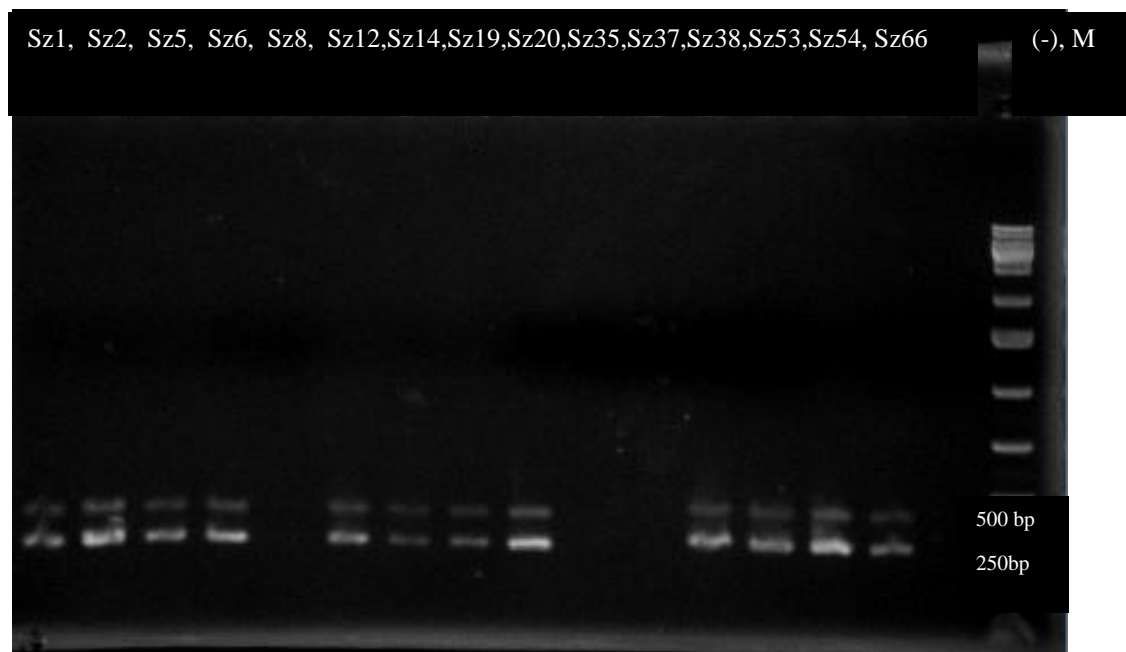


**14. ábra** A vizsgált *Monilinia* izolátumok növekedési sebessége gazdanövényenként csoportosítva (cm)

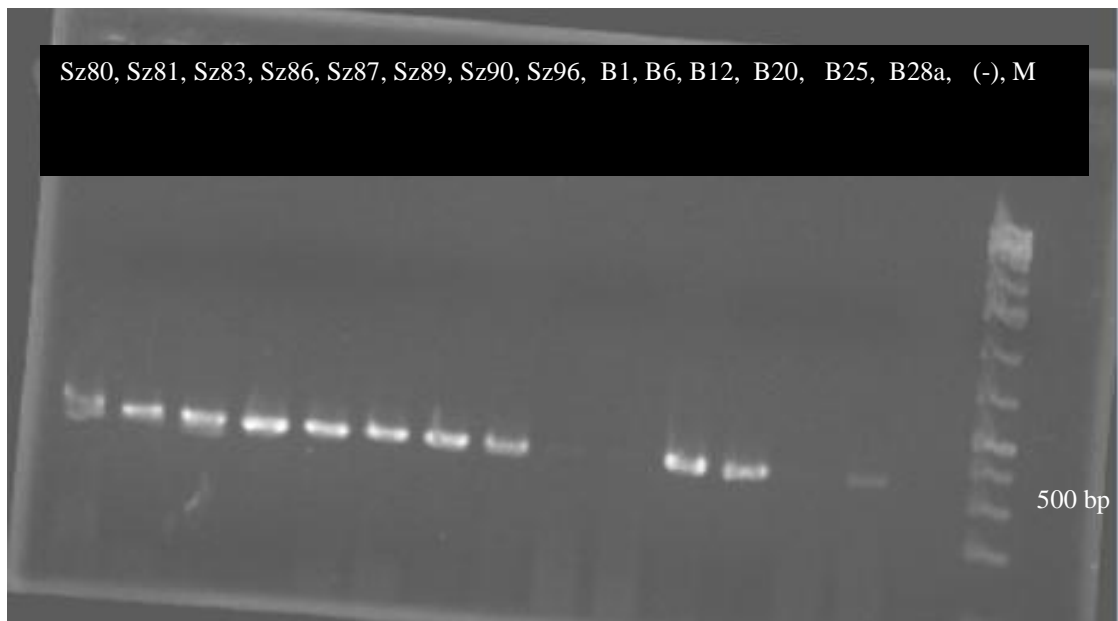
A gazdanövényenkénti növekedési ütem jellemzésekor 3 csoportot tudunk elkülöníteni. Az első csoportba tartoznak az almatermésűekről származó izolátumok. Az ábrán is jól látható, hogy a körtéről, a birsról és az almáról származó izolátumokat az első 3 nap lassabb növekedési ütem jellemzi, míg a negyedik és ötödik napon egy intenzív növekedés ütem figyelhető meg. A második csoportba tartoznak a csonthéjasokról gyűjtött izolátumok, a kajsziról (0,79 - 0,88 - 0,36 - 0,26 cm), az őszibarackról (0,70 - 1,15 - 0,35 - 0,25 cm), a meggyről (0,81 - 0,62 - 0,39 - 0,30cm), a manduláról (0,93 - 0,56 - 0,36 - 0,34cm) és a cseresznyéről (0,51 - 1,02 - 0,40 - 0,24 cm) gyűjtöttek. Itt a növekedési sebesség az első három nap sokkal intenzívebb, mint a negyedik és az ötödik napon. A harmadik csoportot csak a szilva alkotja, mivel az erről származó izolátumok átlagos, kiegyensúlyozott növekedést mutattak szinte minden vizsgálati periódusban (0,42 - 0,63 - 0,44 - 0,46).

#### 4.1.2. Molekuláris azonosítás specifikus primerekkel

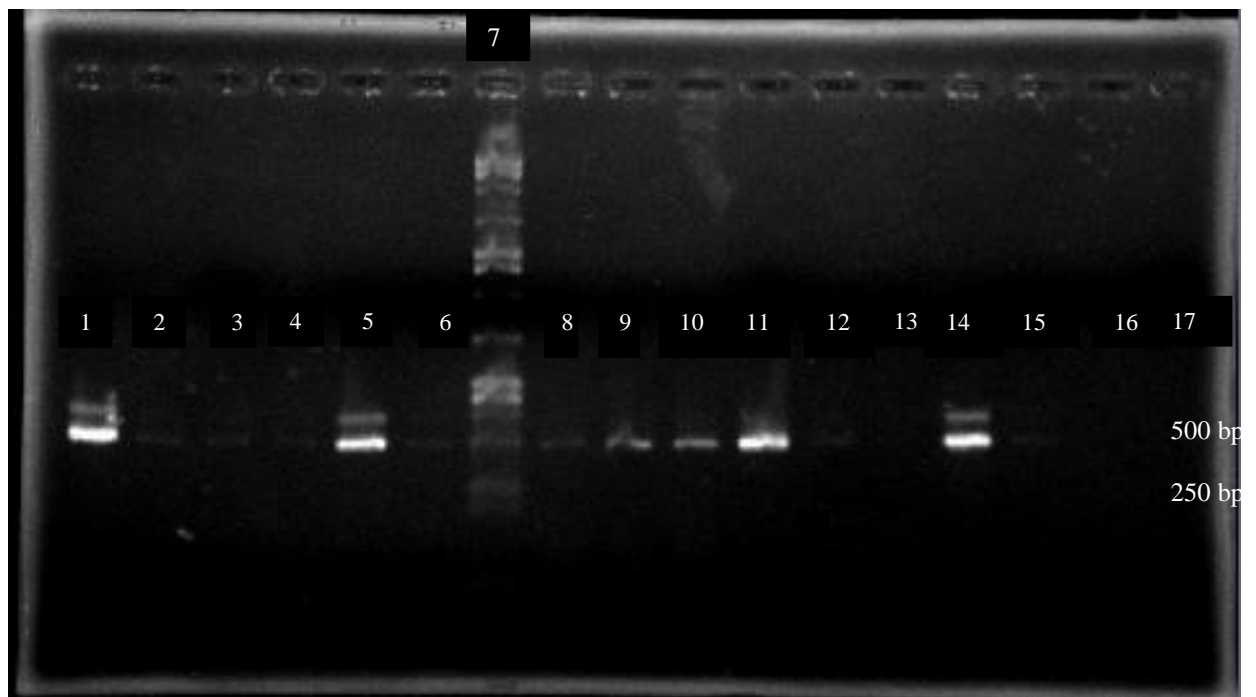
A vizsgálataim során három *Monilinia* fajt tanulmányoztunk és hasonlítottunk össze. A faji azonosításhoz alapul szolgálnak a hagyományos mikológiai módszerek, de a gyors és pontos detektáláshoz - a XXI. századba szinte elengedhetetlen- a molekuláris azonosítás. A **15. ábrán** szemléltetjük a *M. laxa* faj specifikus ITS1 és ITS4 primer alkalmazása során készült gélfotót. Míg a **16. ábrán** a *M. fructigena* faj specifikus primer- pár alkalmazása látható. A **17. ábrán** az FC1, FC2, Sz80 és az FC4 izolátumokat futtattam mindhárom *Monilinia* specifikus primerrel.



**15. ábra** *Monilinia laxa* faj-specifikus ITS1 és ITS4 primer-pár alkalmazása. Sz1, Sz2, Sz5, Sz6, Sz8, Sz12, Sz14, Sz19, Sz20, Sz35, Sz37, Sz38, Sz53, Sz54, Sz66, negatív kontroll, M= 1 kb molekulatömeg-marker



**16. ábra** *Monilinia fructigena* faj specifikus ITS1 és ITS4 primer-pár alkalmazásával: Sz80, Sz81, Sz83, Sz86, Sz87, Sz89, Sz90, Sz96, B1, B6, B12, B20, B25, B28a, negatív kontroll, 1 kb molekulatömeg-marker



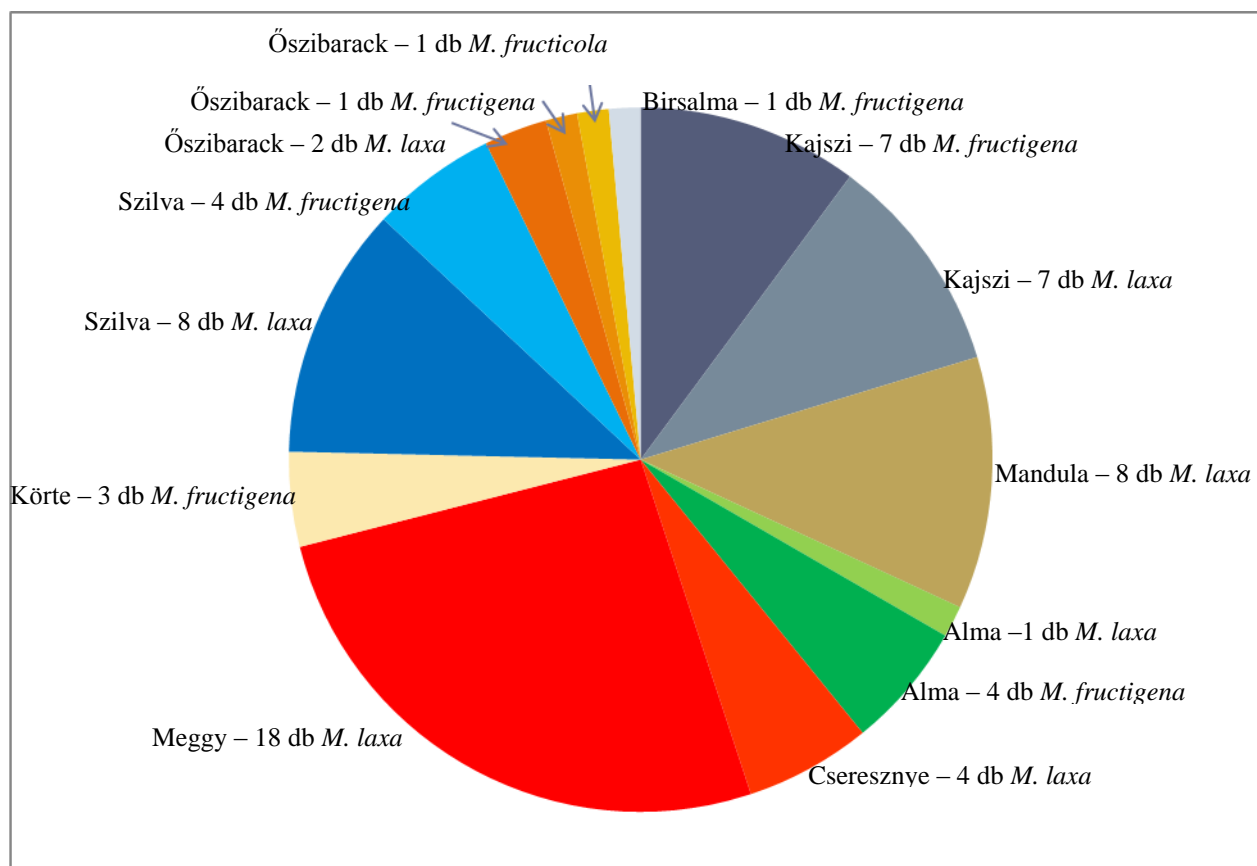
**17. ábra** *Monilinia laxa*, *Monilinia fructigena*, *Monilinia fructicola* faj specifikus primer párok alkalmazása

Jelmagyarázat:

- 1, 8, 13: FC1 izolátum
- 2, 9, 14: FC2 izolátum
- 3, 10, 15: Sz80 izolátum
- 4, 11, 16: FC4 izolátum
- 5: B1 izolátum
- 7: 1 kb molekulatömeg-marker
- 6, 12, 17: negatív kontroll

1, 2, 3, 4, 5, 6: *M. laxa* ITS1 és ITS4 primer pár  
 8, 9, 10, 11, 12, : *M. fructigena* ITS1 és ITS4 primer pár  
 13, 14, 15, 16, 17: *M. fructicola* ITS1 és ITS4 primer pár

A vizsgálatba vont 69 *Monilinia* izolátumból 48 *M. laxa*, 20 *M. fructigena* és egy *M. fructicola* volt (**18. ábra, 6. táblázat**). A kajsziról gyűjtött 14 izolátumot fele *M. laxa*, fele pedig *M. fructigena*. Mind a nyolc mandula ágról gyűjtött izolátum *M. laxa*. Öt izolátum származott alma gyümölcsről, mely közül egyet *M. laxa* négyet pedig *M. fructigena* kórokozónak határoztuk meg. Minden izolátum, mely cseresznyéről vagy meggyről származott *M. laxa* volt. A körte gyümölcsről gyűjtött mindhárom izolátum *M. fructigena*. A szilva gyümölcsről származó 12 izolátum kétharmada *M. laxa*, egyharmada *M. fructigena*. Az őszibarackról származó izolátumok közül kettő *M. laxa*, egy *M. fructigena*, egy pedig *M. fructicola*. A birsalmáról származó izolátum *M. fructigena* volt.



**18. ábra** A gyűjtött *Monilinia* izolátumok faji azonosítása és eloszlása kördiagrammon

6. táblázat: A vizsgálatba vont izolátumok neve és faji azonosítása.

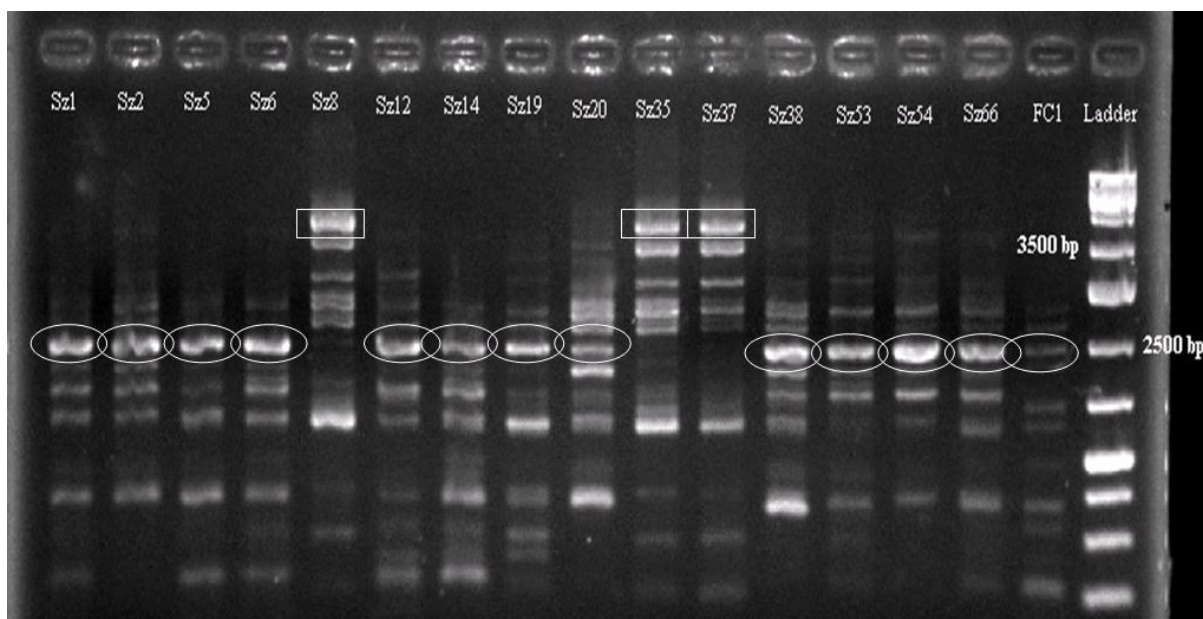
Izolátum név	Faj azonosítás			Izolátum név	Faj azonosítás		
	<i>M. laxa</i>	<i>M. fructigena</i>	<i>M. fructicola</i>		<i>M. laxa</i>	<i>M. fructigena</i>	<i>M. fructicola</i>
Sz1	+			Sz54	+		
Sz2	+			Sz55	+		
Sz3	+			Sz65	+		
Sz5	+			Sz66	+		
Sz6	+			Sz70		+	
Sz7		+		Sz71		+	
Sz8		+		Sz72		+	
Sz9	+			Sz75		+	
Sz10	+			Sz78		+	
Sz12	+			Sz 80		+	
Sz13	+			Sz81		+	
Sz14	+			Sz83		+	
Sz19	+			Sz86		+	
Sz20	+			Sz87		+	
Sz22	+			Sz89		+	
Sz23	+			Sz90		+	
Sz26	+			Sz96		+	
Sz27	+			Sz100	+		
Sz28	+			Sz101	+		
Sz30	+			Sz128	+		
Sz31		+		B1	+		
Sz32	+			B3	+		
Sz33	+			B5	+		
Sz34	+			B6	+		
Sz35		+		B12	+		
Sz37		+		B20		+	
Sz38	+			B22	+		
Sz40	+			B25	+		
Sz41	+			B28a		+	
Sz42	+			B28b	+		
Sz43	+			B32	+		
Sz44	+			FC1	+		
Sz46	+			FC2			+
Sz47	+			FC4		+	
Sz53	+			Cr - <i>Clonostachys rosea</i>			



## 4.2. A *Monilinia* fajok variabilitási vizsgálata

### 4.2.1. A vizsgált izolátumok genetikai diverzitása

A fajok közötti és a fajokon belüli variabilitás megállapítására alkalmazott iSSR vizsgálat során a 7 kipróbált primer közül a T<sub>3</sub>B és a (GATA)<sub>4</sub> primerekkel nem kaptam értékelhető eredményt. A többi öt – a (GAG)<sub>4</sub>RC, a (CAC)<sub>4</sub>RC, a (GTG)<sub>5</sub>, az M13 és a (GTC)<sub>5</sub> - mikro- és miniszatellit primerrel összesen 52 terméket kaptam. A (GAG)<sub>4</sub>RC primerrel 13 terméket kaptam. A **19. ábrán** a 2500 bp-nyi termékek csak a *M. laxára* jellemzőek, míg a 3500 bp-nyiak csak a *M. fructigenára* jellemzőek.



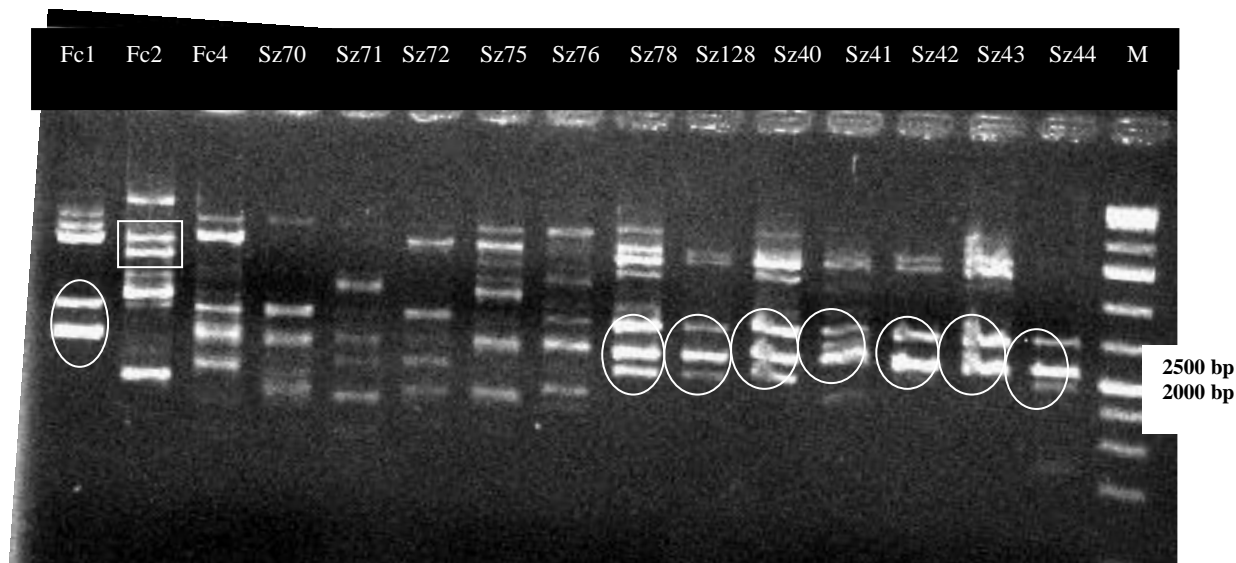
**19. ábra** Magyarországról gyűjtött *Monilinia* izolátumok (GAG)<sub>4</sub>RC mikroszatellit-primerrel kapott PCR termékei elektroforetikus elválasztás után. Az ábrán balról jobbra az alábbi izolátumokat láthatóak: Sz1, Sz2, Sz5, Sz6, Sz8, Sz12, Sz14, Sz19, Sz20, Sz35, Sz37, Sz38, Sz53, Sz54, Sz66, FC1.

Jelmagyarázat:

*M. laxa* izolátumok: Sz1, Sz2, Sz5, Sz6, Sz12, Sz14, Sz19, Sz20, Sz38, Sz53, Sz54, Sz66, FC1

*M. fructigena* izolátumok: Sz8, Sz35, Sz37.

A (CAC)<sub>4</sub>RC primerrel 12 terméket különítettem el. A *M. fructicola* mintázata eltér a *M. fructigena* és a *M. laxa* mintázatától is (**20. ábra**). Csak a *M. laxára* jellemző a 2000 és a 2500 bp-nyi páros termékek.



**20. ábra** Magyarországról gyűjtött *Monilinia* izolátumok (CAC)<sub>4</sub>RC mikroszatellit-primerrel kapott PCR termékei elektroforetikus elválasztás után. Az ábrán balról jobbra az alábbi izolátumok láthatók: Fc1, Fc2, Fc4, Sz70, Sz71, Sz72, Sz75, Sz76, Sz78, Sz128, Sz40, Sz41, Sz42, Sz43, Sz44, molekulatömeg-marker.

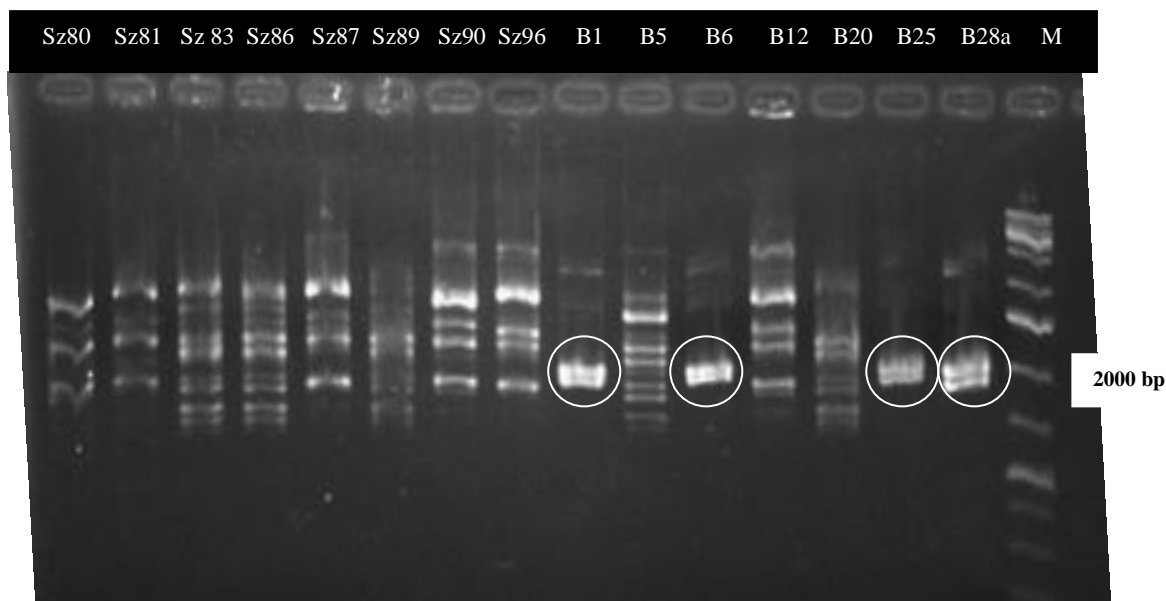
Jelmagyarázat:

*M. laxa* izolátumok: Fc1, Sz78, Sz128, Sz40, Sz41, Sz42, Sz 43 és Sz44.

*M. fructigena* izolátumok: Fc4, Sz70, Sz71, Sz72, Sz75, Sz76.

*M. fruticola* izolátum: Fc2.

A (GTG)<sub>5</sub> primerrel 13 terméket kaptam. A *M. laxa* mintázata jól elkülönül a 2000 bp-nyi termékek dupla csíkja (**21.ábra**). A (GTC)<sub>5</sub> és a M13 primerrel 7-7 terméket különítettem el. Mind az öt primerrel a *M. laxa* és a *M. fructigena* izolátumok jól elkülöníthető mintázatot adtak.



**21. ábra** Magyarországról gyűjtött *Monilinia* izolátumok (GTG)<sub>5</sub> mikroszatellit-primerrel kapott PCR termékei elektroforetikus elválasztás után. Az ábrán balról jobbra az alábbi izolátumok láthatók: Sz80, Sz81, Sz83, Sz86, Sz87, Sz89, Sz90, Sz96, B1, B5, B6, B12, B20, B25, B28a, molekulatömeg-marker.

Jelmagyarázat:

*M. laxa* izolátumok: B1, B6, B25, B28a

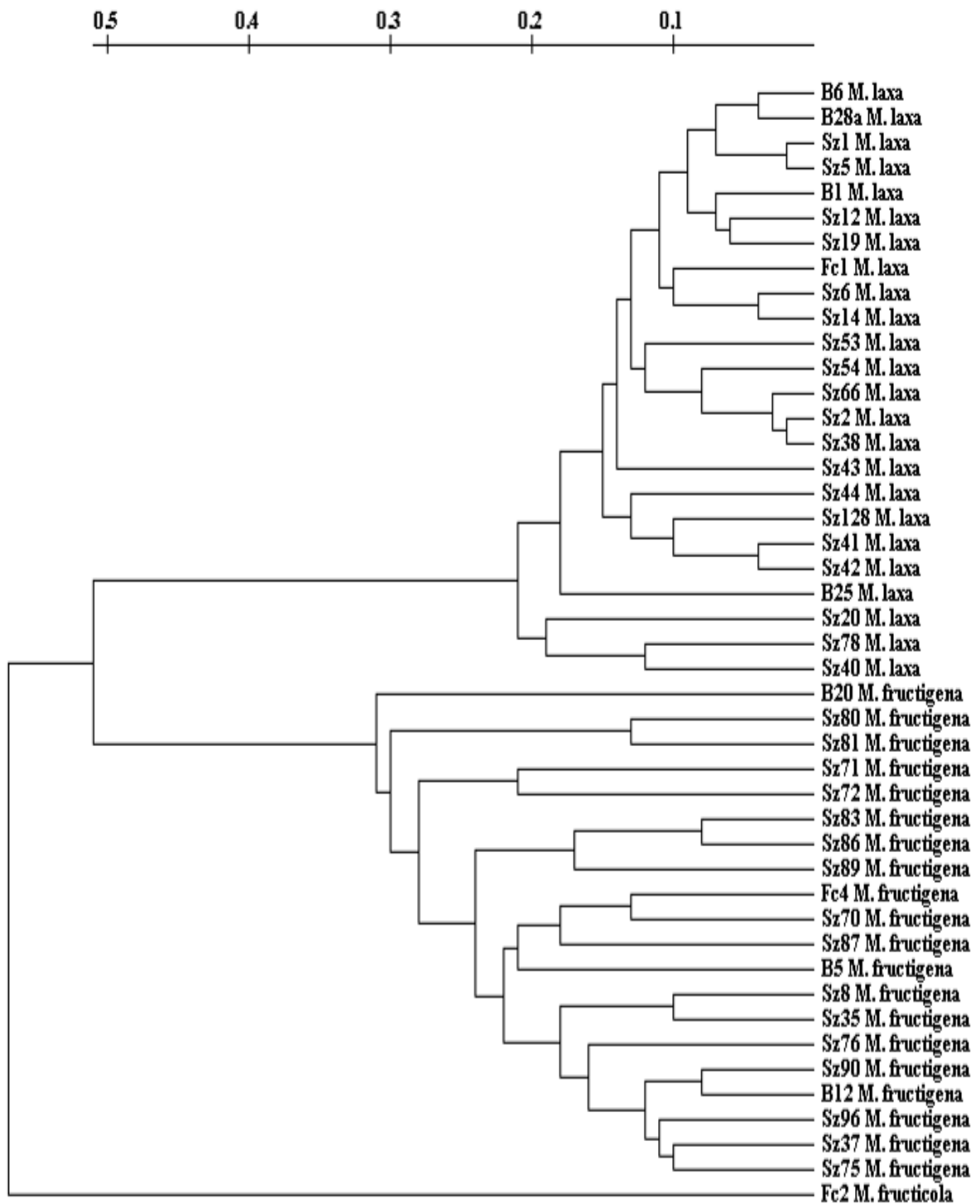
*M. fructigena* izolátumok: Sz80, Sz81, Sz83, Sz86, Sz87, Sz89, Sz90, Sz96, B5, B12, B20.

#### 4.2.2. Adatelemzés

A 45 izolátum iSSR mintázata alapján kapott adatok számítógépes feldolgozásának eredménye alapján készült a **22. ábra** dendogramja, mely szerint a következőket állapítom meg:

Az 52 termék alapján készült dendogramon jól elkülönül a három faj. A filogenetikai törzsfán a *M. fructicola* külön ágat képez, míg a *M. laxa* és a *M. fructigena* közös ágból indul ki. Mind a *M. laxa*, mind a *M. fructigena* klaszter szinten jól elkülöníthető. Az általam alkalmazott módszerrel faj alatti szinten évjáráthatást vagy gazdanövény specializációt nem tudtam kimutatni.

A *M. laxa* izolátumoknál három, míg a *M. fructigena* izolátumoknál kettő olyan terméket azonosítottam, amelyik minden izolátumban megtalálható. Teljesen egyforma mintázatú izolátumokat nem találtam. Mindössze egy termékben mutatkozott eltérés az Sz1 és az Sz5, valamint az Sz2 és az Sz38 *M. laxa* izolátumok között, annak ellenére, hogy különböző helyről és különböző gazdanövényről származtak.



**22. ábra** A Magyarország különböző termőhelyeiről, különböző évjáratban és különböző gazdanövényről gyűjtött *Monilinia laxa*, *Monilinia fructigena* és *Monilinia fructicola* izolátumok iSSR mintázata alapján készült filogenetikai törzsfa

A Nei féle genetikai diverzitás számításait (Nei, 1987) alkalmazva a faji struktúra analízisének kimutatása során megállapítható, hogy a vizsgálatba vont *Monilinia laxa* populáció genetikai diverzitása  $H_S = 0.1599$ , míg a *Monilinia fructigena* populáció diverzitása  $H_S = 0.2551$  (7. táblázat). A teljes genetikai távolság  $H_T = 0.3846$ , míg a *M. laxa* és *M. fructigena* populációk közötti távolság  $D_{ST} = 0.1771$ . A gén differencia koefficiens a *M. laxa* és a *M. fructigena* populációknál  $G_{ST} = 0.4604$ . Míg a Nei-féle genetikai távolság a két faj között  $0.5839$  (Nei, 1978). A vizsgált izolátumok között egy bizonyult a *M. fructicola* fajból származónak, így fajon belüli és fajok közötti diverzitást nem tudtam tanulmányozni.

**7. táblázat:** Az általam vizsgált hazai *Monilinia laxa* és *Monilinia fructigena* izolátumok genetikai diverzitása a Nei féle paraméterek alapján (Nei, 1987 )

Egységek	ISSR lókuszok száma	$H_S$	$H_T$	$D_{ST}$	$G_{ST}$
Ml:Mf	47	0.2075	0.3846	0.1771	0.4604
Ml	47	0.1599	-	-	-
Mf	47	0.2551	-	-	-

Jelmagyarázat:

- $H_S$ : teljes populáció
- $H_T$ : populáción belül
- $D_{ST}$ : populációk között
- $G_{ST}$ : teljes populáció genetikai diverzitása

*M. laxa* fajon belül a genetikai variabilitás 31,89%-os, míg a *M. fructigena* fajon belül 45,96 %-osnak bizonyult. *M. fructicola* fajból csak egy darab izolátummal rendelkezem, így fajon belüli összehasonlítást nem tudtam végezni. A *M. laxa* és a *M. fructigena* fajok között az eltérés 38,28%-os.

Az ültetvényeken belüli eltérést az alábbiakban foglalom össze:

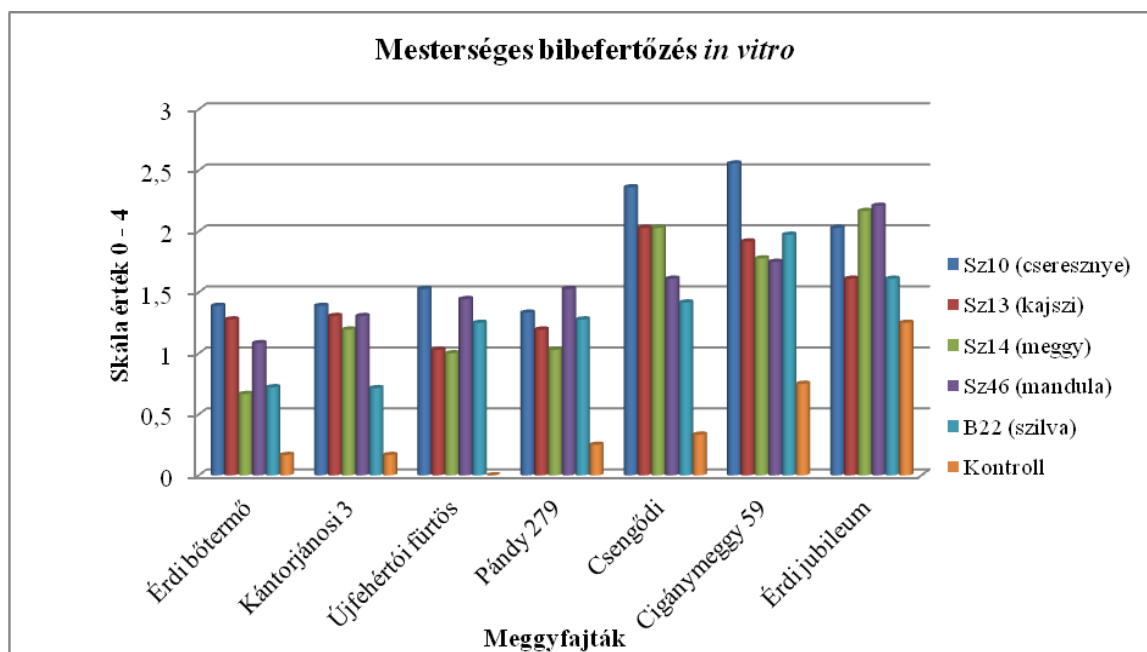
- Azonos körteültetvényből származó *M. fructigena* izolátumok (Sz80, Sz81, Sz83) esetében a változékonyság 40,83 %-os.
- Azonos kajszi ültetvényből származó *M. fructigena* izolátumok esetében (Sz70, Sz71, Sz72, Sz75) a variabilitás 44,23 %.
- Azonos mandula ültetvényből származó *M. laxa* izolátumok variabilitása (Sz38, Sz40, Sz41, Sz42, Sz43 és Sz44) 31,53 %.
- Azonos szilva ültetvényből származó *M. fructigena* izolátumok variabilitása (Sz 86, Sz87 és az Sz89) 44,23%.

Az ültetvények közötti eltérés 40,20 %-os.

### 4.3. A *Monilinia* izolátumok agresszivitásának és a meggyfajták fogékonyságának vizsgálata

#### 4.3.1. Mesterséges fertőzés bibén, *in vitro*

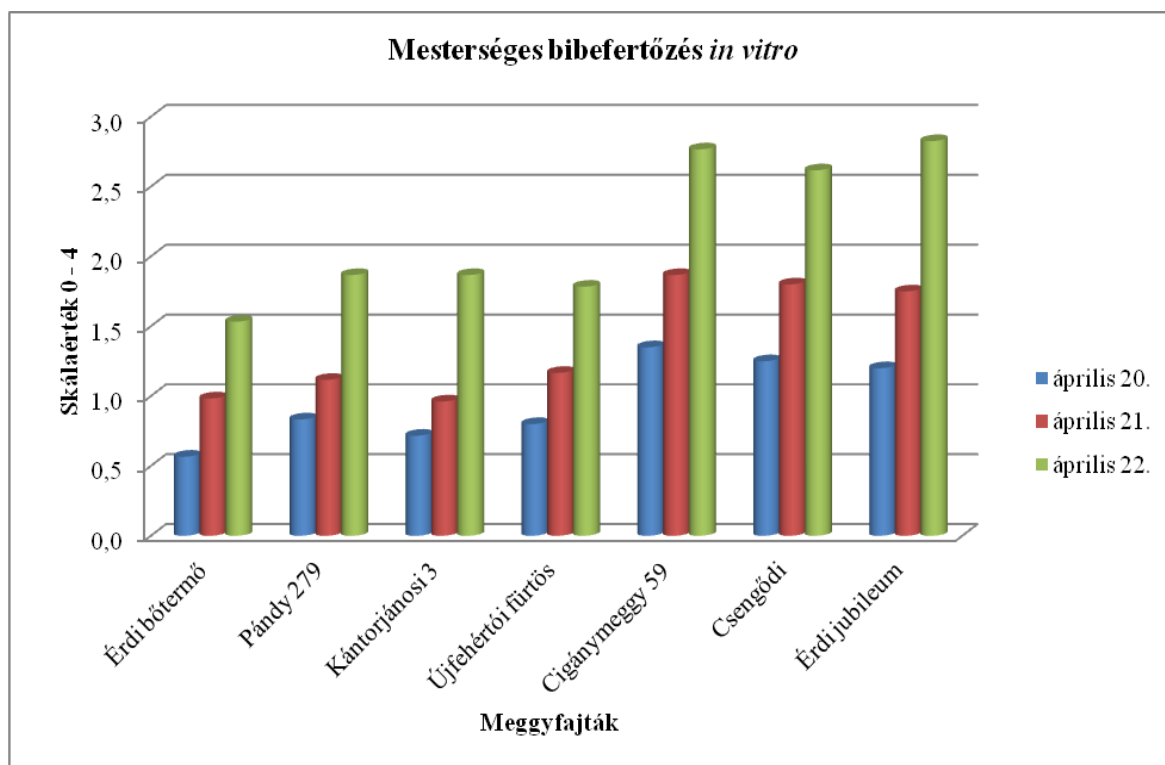
A bibefertőzési kísérletnél feltételeztem, hogy a bibe egy antifungális anyagot bocsájt ki, mellyel megakadályozza annak fertőződését, így az eredmények értékelését ebből a szempontból közelítem meg. A különböző gazdanövényről származó *M. laxa* izolátumokkal történt kezelések alapján megállapítottam, hogy a különböző meggyfajták bibéi részben hasonló és részben különböző reakciókat adtak az egyes kezelésekre. Az értékeket a Melléklet 4. táblázatában szemléltetem. A kísérlet ellenőrzése során a kontroll bibék nyújtottak minden esetben támpontot. A bibeelhalás mértékét a kezeletlen bibék (kontroll) állapotához hasonlítottam. Az első két nap minden kontroll bibe szép egészséges zöld volt, majd a harmadik napon - véleményem szerint a számukra kedvezőtlen körülmények miatt - a meggyfajták bibéinek a többségén megjelentek a természetes beszáradás jelei. A meggyfajták bibeelhalásának mértékének megállapítására alkalmazott skála alapján: 0 - a bibe egészséges, 1 - a bibe teteje elbarnult, 2 - a bibeszál negyedéig elbarnult, 3 - a bibe fele elbarnult, 4 - az egész bibe elbarnult. A fertőzetlen kontroll bibéknél a harmadik napra a legerőteljesebb elhalást az Érdi jubileum (átlag: 1,25) bibéi, míg a legkisebb nekrozist az Újfehértói fürtös (átlag: 0,00) bibéi mutatták. Az izolátumok fertőzőképessége, agresszivitása az alábbiak szerint alakult: Sz10 (cseresznye) (átlag: 1,79), Sz46 (mandula) (átlag: 1,56), Sz13 (kajszi) (átlag: 1,48), Sz14 (meggy) (átlag: 1,40) és végül a B22 (szilva) (átlag: 1,28) (23. ábra).



23. ábra A meggyfajták bibeelhalásának mértéke (0 - a bibe egészséges, 1 - a bibe teteje elbarnult, 2 - a bibeszál negyedéig elbarnult, 3 - a bibe fele elbarnult, 4 - az egész bibe elbarnult) az alkalmazott *Monilinia laxa* izolátumokkal való fertőzést követő három egymást követő nap átlagába, valamint a fertőzetlen kontroll bibék elhalása a harmadik vizsgált napon.

Mint a táblázatból látható az Sz10 cseresznyéről származó *M. laxa* izolátum volt a legagresszívebb minden fajtánál. A Cigánymeggy 59 bibéjén ez az izolátum okozta a legerősebb bibeelhalást (átlag: 2,55). Az Sz10-es a Pándy 279-es fajtán (átlag:1,33) okozta a legkisebb elhalást. Az Sz14 meggyről és az Sz46 manduláról származó izolátumok a legerőteljesebb bibeelhalást az Érdi jubileum fajtánál (átlag: 2,17; 2,21), míg a legkisebb elhalást az Érdi bőtermő (átlag: 0,67; 1,08) meggyfajta bibéjén okozták. A Csengődi fajta virága egyforma mértékben halt el a meggyről (Sz14) és a kajsziról (Sz13) származó izolátum esetében (átlag: 2,02). A kajsziról (Sz13) származó izolátum a vizsgált hét meggyfajta közül ennél a fajtánál okozott legnagyobb elhalást.

A fajták fogékonysága az alábbiak szerint alakult: Érdi jubileum (átlag: 1,81), Cigánymeggy 59 (átlag: 1,78), Csengődi (átlag: 1,62), Pándy 279 (átlag:1,10), Újfehértói fürtös (átlag: 1,04), Kántorjánosi 3 (átlag: 1,01) és az Érdi bőtermő (átlag: 0,88) (**24. ábra**). Ez a bibeelhalási sorrend mutatja a fajták ellenállóságát is. A Cigánymeggy 59, a Csengődi és az Érdi jubileum minden izolátummal szemben nagyobb mértékű elhalást mutatott, mint a többi fajta. Az Érdi bőtermő szinte minden izolátum esetében a legalacsonyabb bibeelhalási értéket mutatta.

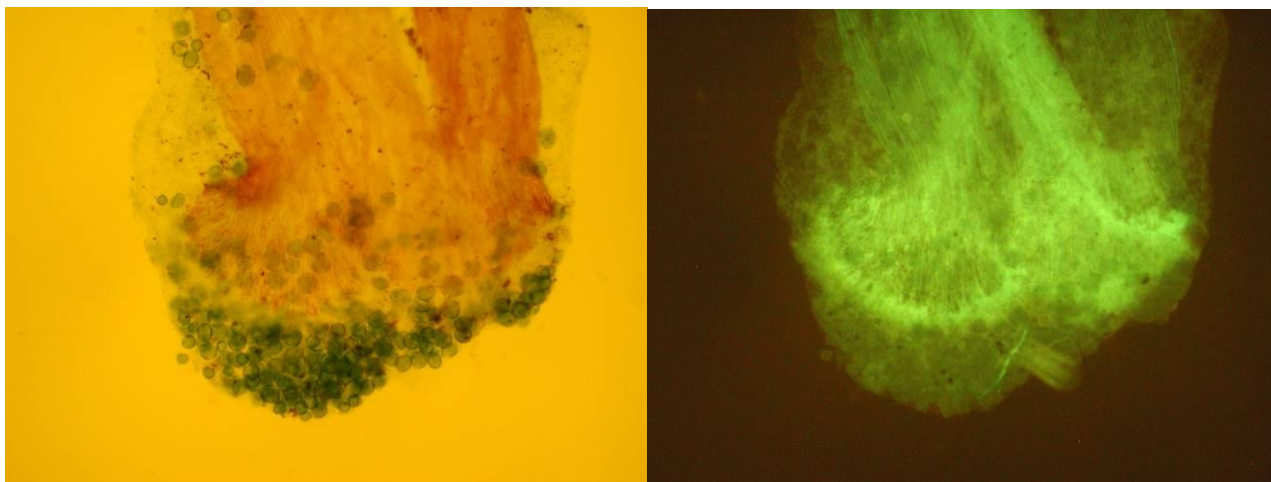


**24. ábra** A meggyfajták bibeelhalásának mértéke (0 - a bibe egészséges, 1 - a bibe teteje elbarnult, 2 - a bibeszál negyedéig elbarnult, 3 - a bibe fele elbarnult, 4 - az egész bibe elbarnult) az alkalmazott *Monilinia laxa* izolátumokkal való fertőzés eredményének átlagában a három egymást követő napon.

Az eredményeket kéttényezős varianciaanalízissel értékeltém és a Mellékletek 5. táblázatában közlöm. Az adatok alapján megállapítottam, hogy szignifikáns különbség van az egyes fajták, az egyes izolátumok, valamint az egyes kezelések között.

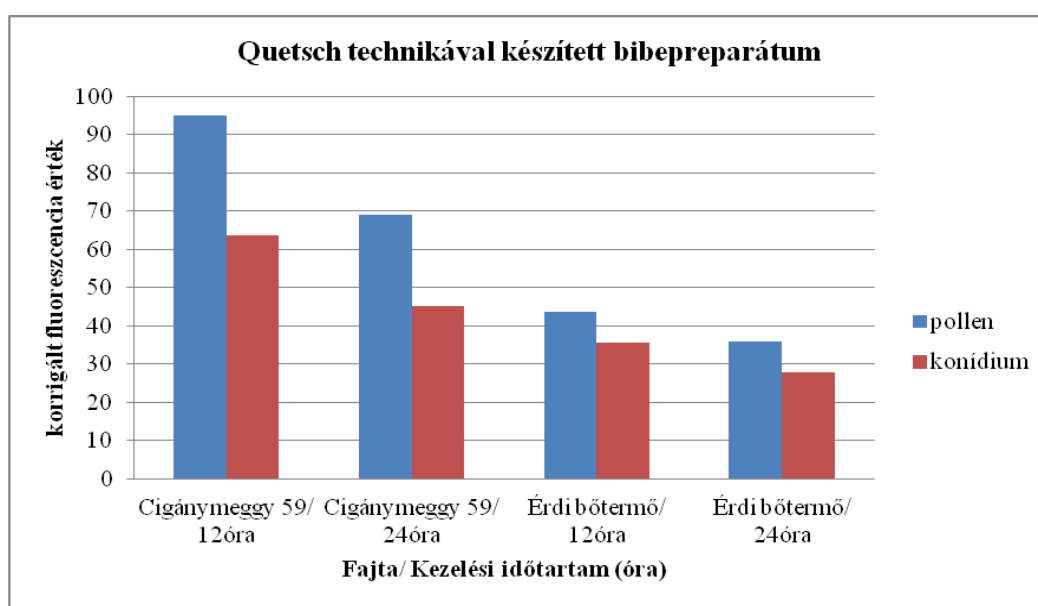
### 4.3.2. Bibeszövet vizsgálat

I. A Quetsch preparátumot az Érdi bőtermő és a Cigánymeggy 59 fajtnál 12 és 24 óráig tartó pollen és konídium szuszpenzióval történő kezelését, továbbá a Pándy 279 fajtnál 1, 2, 4, 24 és 48 óráig tartó pollen és konídium szuszpenziós kezelését követően készítettem (**25. ábra**). Az eredményeket a Mellékletek 6. és 7. táblázatai tartalmazzák.



**25. ábra** Quetsch preparátum Cigánymeggy 59 fajta 48 órás konídium szuszpenzióval történő fertőzést követően (bal oldali kép: normál megvilágítás, jobb oldali kép: fluoreszcens megvilágítás)

A 192-256 fluoreszcencia szintnél korrigált adatok alapján a legerősebb fluoreszcenciát a Cigánymeggy 59 fajta 12 órás pollen szuszpenziós (átlag: 95,01) kezelést követően adta. Ha az idő intervallumokat tekintjük, akkor megfigyelhető, hogy a 12 órás kezelés mind a pollennel, mind a konídium szuszpenzióval nagyobb értéket mutatott, mint a 24 órás (**26. ábra**). Összehasonlítva a mesterséges bibefertőzési adatokkal, a Cigánymeggy 59 fajta bibeelhalása nagyobb mértékű volt, a fluoreszcencia vizsgálatban pedig nagyobb értéket adott, mint az Érdi bőtermő fajta.

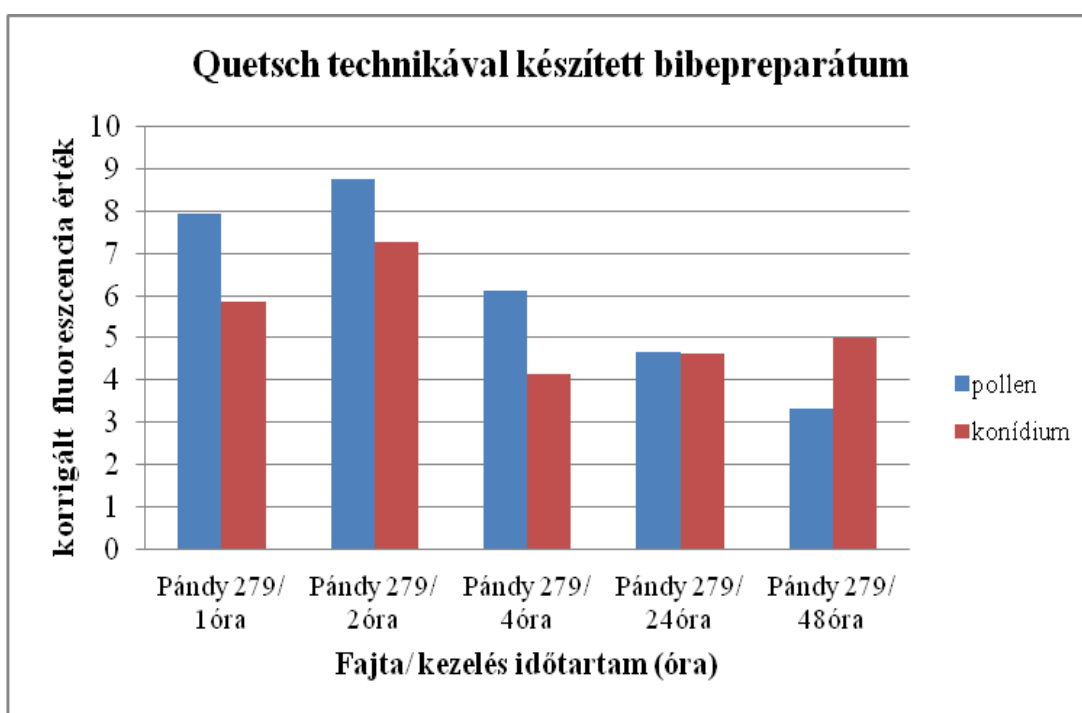


**26. ábra** A fluoreszcencia erősség mértéke Quetsch technikával készített Cigánymeggy 59 és Érdi bőtermő bibepreparátumon, melyek 12 és 24 órás pollen és konídium szuszpenziós kezelést kaptak



Az Érdi bőtermő fajta fluoreszcencia adatai kisebbek, mint a Cigánymeggy 59 fajta adatai, azonban a időintervallum növekedésével itt is - hasonlóan a Cigánymeggy 59 fajtához- csökken a fluoreszcencia értéke.

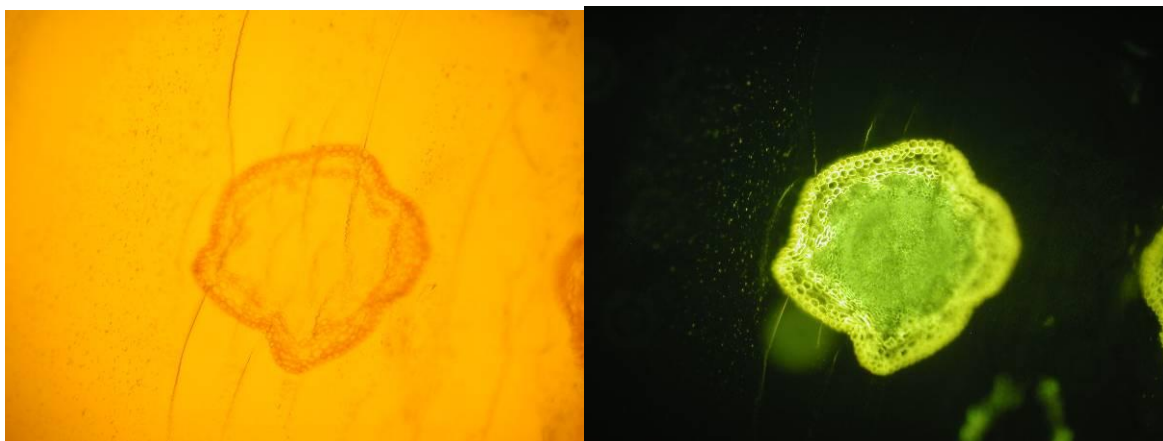
A Pándy 279 meggyfajta 1, 2, 4, 24 és 48 órás pollen és konídium szuszpenziós kezelése során kapott eredményeket a Melléklet 7. táblázata tartalmazza és a **27. ábra** szemlélteti. Ha az adott meggyfajtán belül a pollenes és a konídiumos kezelést hasonlítjuk össze, akkor átlagban a pollenes kezelés nagyobb fluoreszcenciát mutatott. A Cigánymeggy 59 és az Érdi bőtermő fajtáknál tapasztalt fluoreszcencia értékektől nagyságrendekkel elmarad. Mind a pollennel, mind a konídium szuszpenzióval történt kezelésnél megfigyelhető, hasonlóan a Cigánymeggy 59-nél és az Érdi bőtermőnél az idő múlásával a fluoreszcencia erőssége csökken.



**27. ábra** A fluoreszcencia erősség mértéke Quetsch technikával készített Pándy 279 bibepreparátumon, melyek 1, 2, 4, 24 és 48 órás pollen és konídium szuszpenziós kezelést kaptak

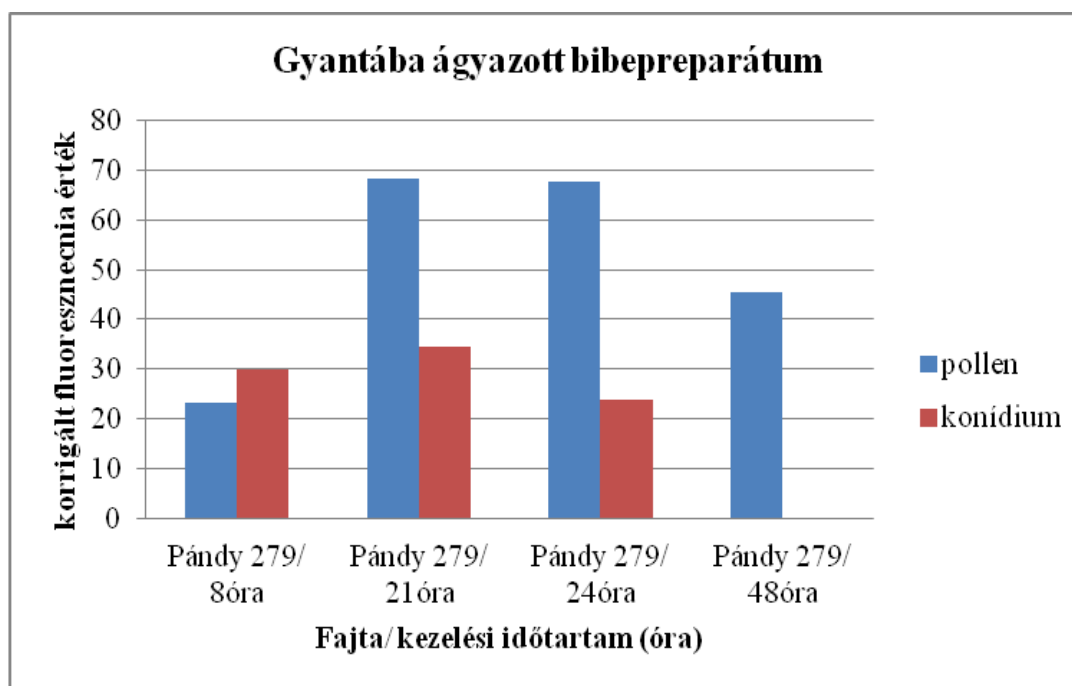
A Pándy 24 órás kezelésénél megfigyelhető, hogy a konídium és a pollen szuszpenzióval történt kezeléseknél a fluoreszcencia erőssége majdnem egyforma. Ezt követően a 48 órás kezelésnél már a konídiummal való kezelésnél kaptam nagyobb fluoreszcens értékeket.

II. A gyantába ágyazott preparátumot a Pándy 279 meggyfajta 8, 21, 24 és 48 órás pollen és konídium szuszpenziós kezelését követően készítettünk (**28. ábra**).



**28. ábra** Mikroszkóp alatti felvétel a gyantába ágyazott Pándy 279 bibepreparátum 21 órás *Monilinia* fertőzést követően (bal oldali kép: normál megvilágítás, jobb oldali kép: fluoreszcens megvilágítás)

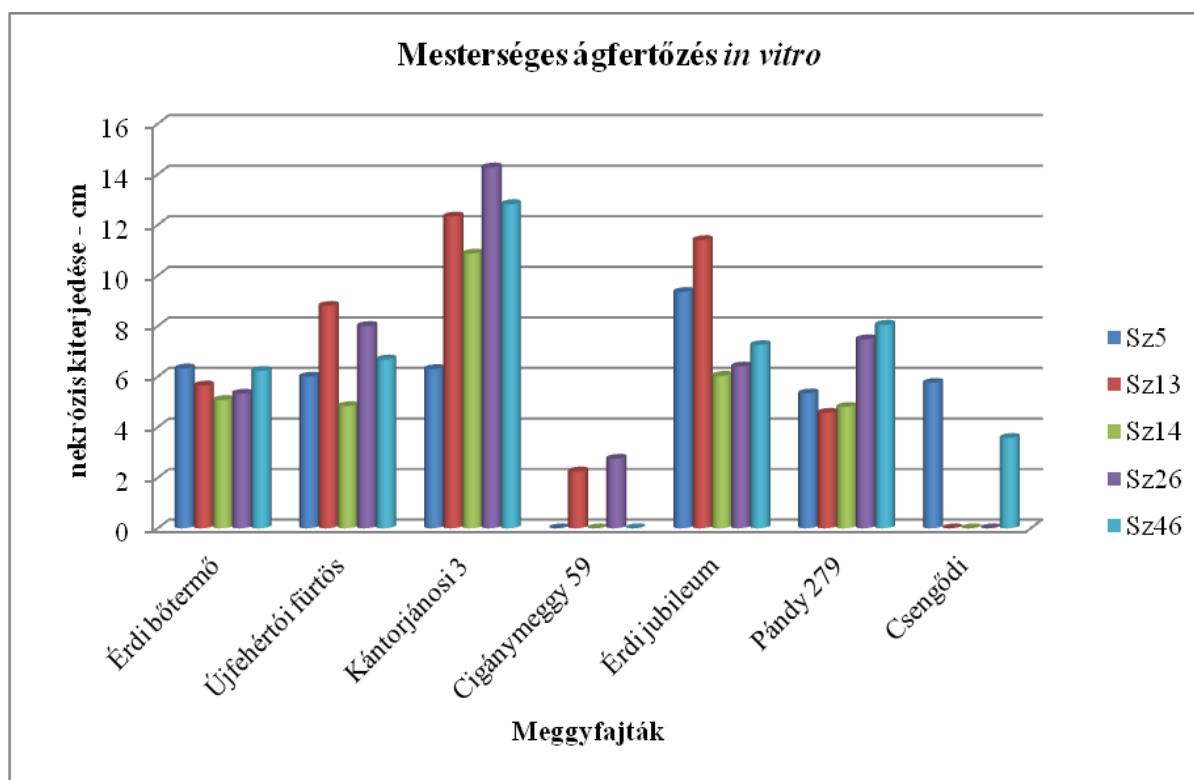
Az eredményeket a Melléklet 8. táblázata tartalmazza és a **29. ábra** szemlélteti. Az eredményeknél jól látható itt is, hogy a pollennel történt kezelésekre adott növényi szövet reakciójának fluoreszcens értéke általában nagyobb, mint a konídium szuszpenzióval történt fertőzés esetében. Mindkét kezelésnél egyformán az időintervallum növelésével először elér egy csúcspontot, majd csökken a fluoreszcencia erőssége. Ez a tendencia, mind a pollen, mind a konídium szuszpenzióval történt kezelésnél megfigyelhető.



**29. ábra** A fluoreszcencia erőssége gyantába ágyazott Pándy 279 bibepreparátumnál, amely 8, 21, 24 és 48 órás pollen és konídium szuszpenziós kezelést kapott

### 4.3.3. Mesterséges ágfertőzés, *in vitro*

A meggy intenzív növekedési időszakában, a virágzásban végzett mesterséges fertőzést követően a 12. napon értékeltem, míg a nyugalmi időszakban végzett mesterséges fertőzések esetében az értékelését a fertőzést követő 35. napon végeztem. A virágzási időben végzett *in vitro* mesterséges ágfertőzés értékelésének eredményét a Mellékletek 9. táblázatában foglaltam össze. Az egyes fajtákon kialakult elhalás mértéke között rendkívül nagy az eltérés. Míg a Csengődi és a Cigánymeggy 59 fajta esetében három izolátumnál is nulla az érték, azaz semmilyen nekrotikus tünetet nem találtam, addig a Kántorjánosi 3 fajtánál több esetben is kiemelkedő háncselhalást tapasztaltam (30. ábra). Ennél a fajtánál az Sz46 meggyről származó izolátum esetében (érték: 24,5cm), az Sz26 manduláról származó izolátum esetében (érték: 23,5cm) és az Sz13 kajsziról származó izolátum esetében (érték: 22cm) is kiugróan magas értékeket mértem.



**30. ábra** A virágzási időszakban *in vitro* mesterséges ágfertőzés hét meggyfajtán öt különböző gazdanövényről származó monilinia izolátummal, az inkubáció után 12 nappal az átlag nekrotikus kiterjedése cm-ben mérve.

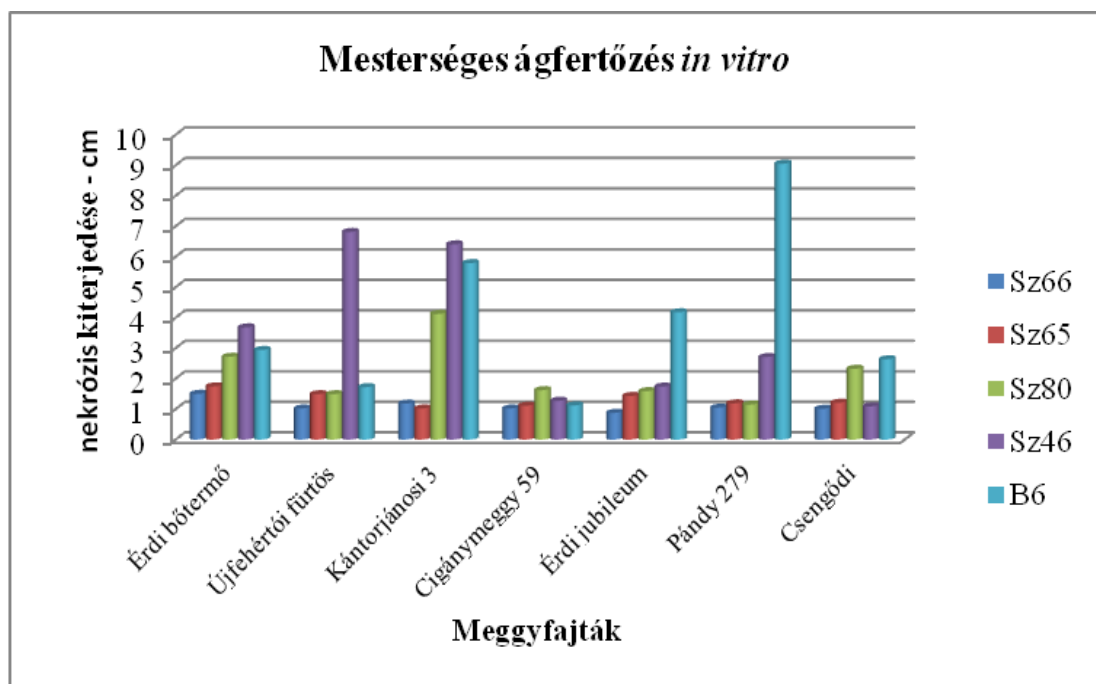
Az Sz13, az Sz26 és az Sz46 izolátumnak a fertőzősege az összes fajtán előidézett nekrotikus összege alapján közel azonos. A kéttényezős varianciaanalízis eredménye is alátámasztja, hogy az egyes izolátumok között nincs szignifikáns különbség. A Mellékletek 10. táblázatából azonban jól látható az is, hogy az egyes meggyfajták között szignifikáns különbség van. Ennek alapján a fajtákat négy csoportba osztottam. Az első csoportba tartoznak a legkisebb mértékű elhalást mutató fajták a Cigánymeggy 59 és a Csengődi, a második csoportba tartoznak a Érdi

bőtermő, a Pándy 279 és az Újfehértói fürtös. A harmadik csoportba az Érdi jubileum (31. ábra), míg a negyedik csoportban a Kántorjánosi 3 szerepel, amely fajta nagyon fogékonyak bizonyult szinte minden izolátummal történő mesterséges fertőzés eredménye alapján.



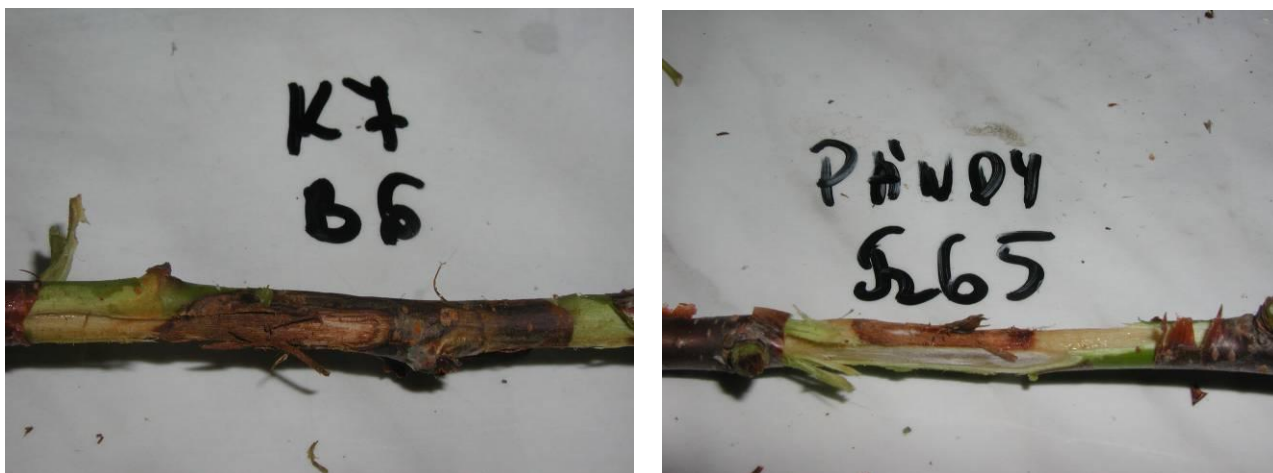
**31. ábra** A virágzási időszakban az Érdi Jubileum meggyfajta Sz13 és az Újfehértói fürtös meggyfajta Sz46 *Monilinia laxa* izolátum által okozott nekrosis inkubáció után 12 nappal.

A meggy nyugalmi időszakában végzett *in vitro* mesterséges ágfertőzés eredményeit a Mellékletek 11. táblázatában szemléltetem. A *M. laxa* izolátumok és a *M. fructigena* izolátum fertőzőképességének mértéke nagyfokú változatosságot mutatott a meggy háncsszövetében. A szilváról származó B6 izolátum volt a legagresszívebb, mivel a mesterséges fertőzési kísérletben a meggy vesszőkön hosszú háncselhalást okozott. Ezt követte agresszivitási sorrendben az Sz46 manduláról, az Sz80 körtéről, az Sz65 kajsziról, s a legkisebb elhalást okozta az Sz66 meggyről származó izolátum (32. ábra).



**32. ábra** A nyugalmi időszakban *in vitro* mesterséges ágfertőzés hét meggyfajtán öt különböző gazdanövényről származó monilinia izolátummal, az inkubáció után 35 nappal az átlag nekrosis kiterjedése cm-ben mérve.

Az Sz80 *M. fructigena* izolátum a Kántorjánosi 3 fajtánál néhány esetben kiemelkedő (érték: 8 cm) hánccspusztulást okozott. Összességében a fajták közül a legfogékonyabb a Kántorjánosi 3, a legkevésbé fogékony pedig a Csengődi és a Cigánymeggy 59. Ezek az adatok hasonlóak a virágzási időben történő *in vitro* mesterséges ágfertőzés eredményeihez, azonban itt nem tudtam olyan határozott csoportokat elkülöníteni. Habár a Kántorjánosi 3 fajta a legérzékenyebb és a B6 izolátum a legagresszívabb, mégis a Kántorjánosi 3 fajtát az Sz46 manduláról származó izolátum fertőzte a legjobban (átlag: 6,41cm), a B6 szilváról származó izolátum pedig a Pándy 279 fajtát (átlag: 9,05cm) (33. ábra). Az Sz65 meggyről és az Sz66 kajsziról származó izolátumok agresszivitása kisebb volt, mint az Sz80 körtéről származó *M. fructigena* izolátumé.



**33. ábra** A nyugalmi időszakban a Kántorjánosi 3 meggyfajta B6 és a Pándy 279 meggyfajta Sz65 *Monilinia laxa* izolátum által okozott nekrosis inkubáció után 35 nappal

A kísérleti eredmények kéttényezős varianciaanalízissel értékeltem, mely eredményt a Mellékletek 12. táblázatában szemléltetem. Az eredményekből látható, hogy a nyugalmi időszakban végzett mesterséges fertőzéseknél az izolátumok és a fajták között is szignifikáns a különbség.

#### 4.3.4. Mesterséges ágfertőzés, *in vivo*

A két egymás utáni évben (tenyészedőszakban) a mesterséges ágfertőzés mértékét a gazdanövény fenológiai állapota, és a fertőzés két évében adott különböző időjárási körülmények nagymértékben befolyásolták.

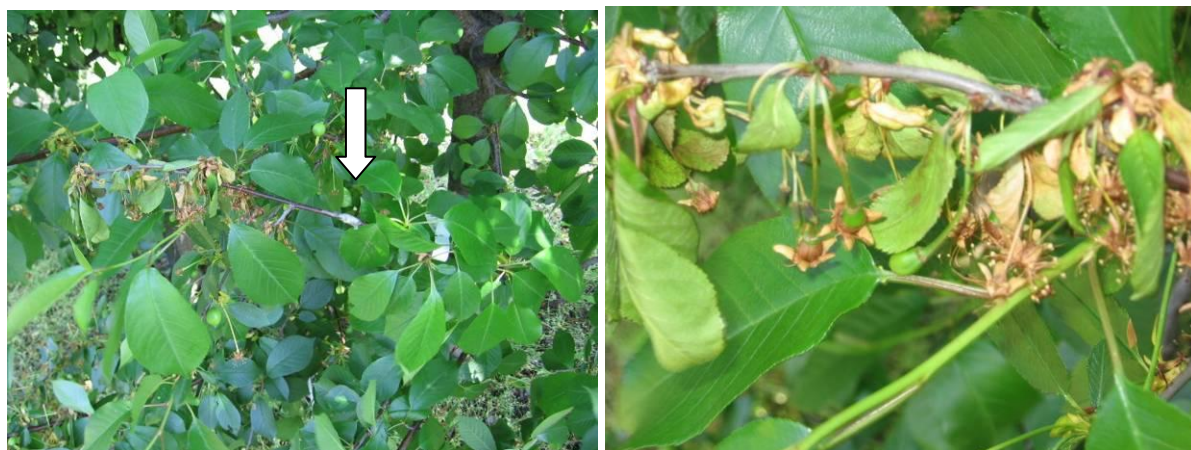
2006-ban az értékelést megelőző héten végzett megfigyelés szerint (2006.05.16-án) a legerősebb fertőzést a manduláról származó Sz46 izolátum okozta, mivel ezeken az ágakon a virágcsomó, valamint az összes levél elhalt (34. ábra). A meggyről származó Sz100 izolátum



esetében az elhalt virágcsomók mellett találtunk ép leveleket, ép virágokat, valamint kötött, de életképtelen terméseket, a kocsányuk fejletlen volt, érintésre lehullott (**35. ábra**).



**34. ábra** Az Sz46 izolátummal történt mesterséges ágfertőzés tünete Pándy 279 meggyfaján, a nyíl a fertőzés helyére mutat.



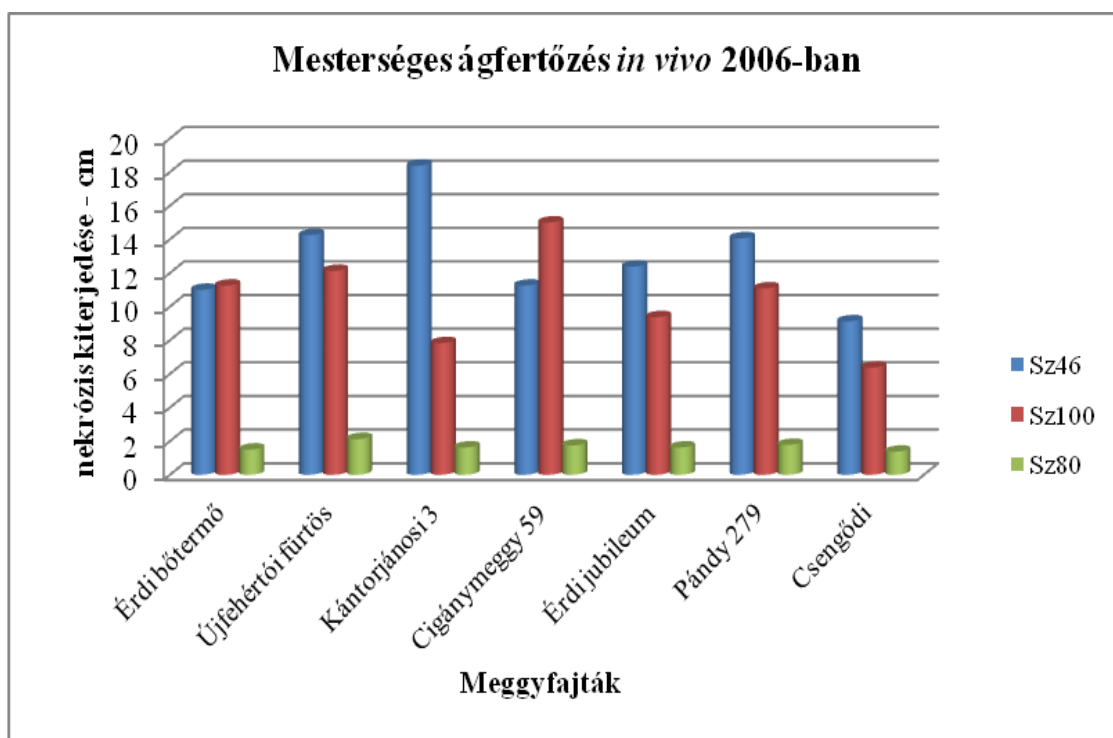
**35. ábra** Az Sz100 izolátummal fertőzött Pándy 279 meggyfajta. A virágzás időszakában fertőzött ágakon lévő virágok még megtermékenyültek, de a fejlődésben teljesen visszamaradtak.

Az Sz80 (*M. fructigena*) izolátummal történt mesterséges fertőzést követően a levelek és a virágok egészségesek maradtak, de a fertőzés helyétől az első éves hajtásig a levelek láthatóan kisebbek, míg az első éves hajtásnál ismét egészséges levelek figyelhetők meg. Ennél az izolátumnál a legtöbb esetben már az értékelésnél is jól látszott az erős mézgásodás (**36. ábra**).



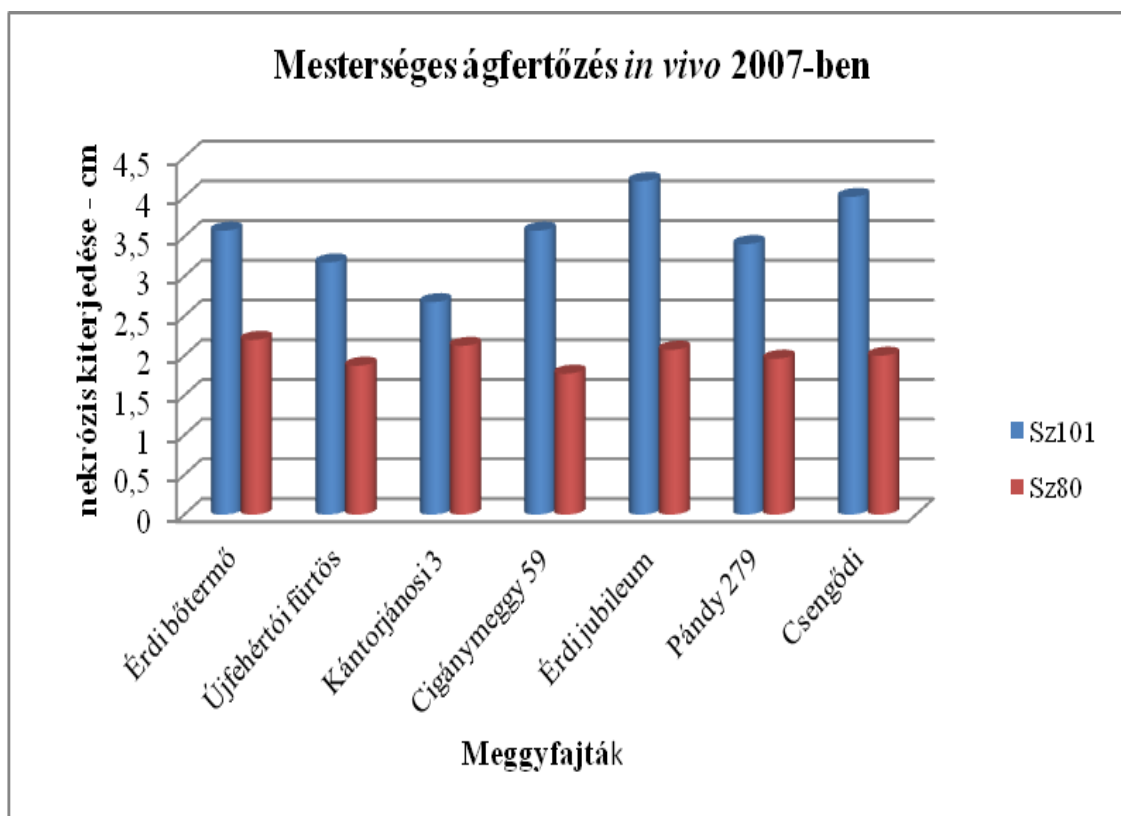
**36. ábra** Kántorjánosi 3 meggyfajta mézgásodása *Monilinia fructigena* Sz80 izolátummal történő kezelést követően.

A 2006 és 2007 években *in vivo* mesterséges ágfertőzés kiértékelésnél a nekrosis hosszát cm-ben fejeztem ki, a kapott eredményeket a Mellékletek 13. táblázatában foglaltam össze. 2006-ban a meggyről (Sz100) származó izolátum esetében a legnagyobb elhalást a Cigánymeggy 59-en (átlag: 15cm), míg a legkisebb nekrozist a Csengődi fajtánál (átlag: 6,3cm) tapasztaltam (**37.ábra**). Az Sz46 manduláról származó izolátum a legnagyobb elhalást a Kántorjánosi 3 fajtánál (átlag: 18,3cm) okozott, a legkisebb elhalást ebben az esetben is a Csengődi fajtánál (átlag: 9,1cm) mértem.



**37. ábra** 2006 évben virágzásban végzett szabadföldi mesterséges fertőzés során keletkezett hánccselhalás mértéke cm-ben

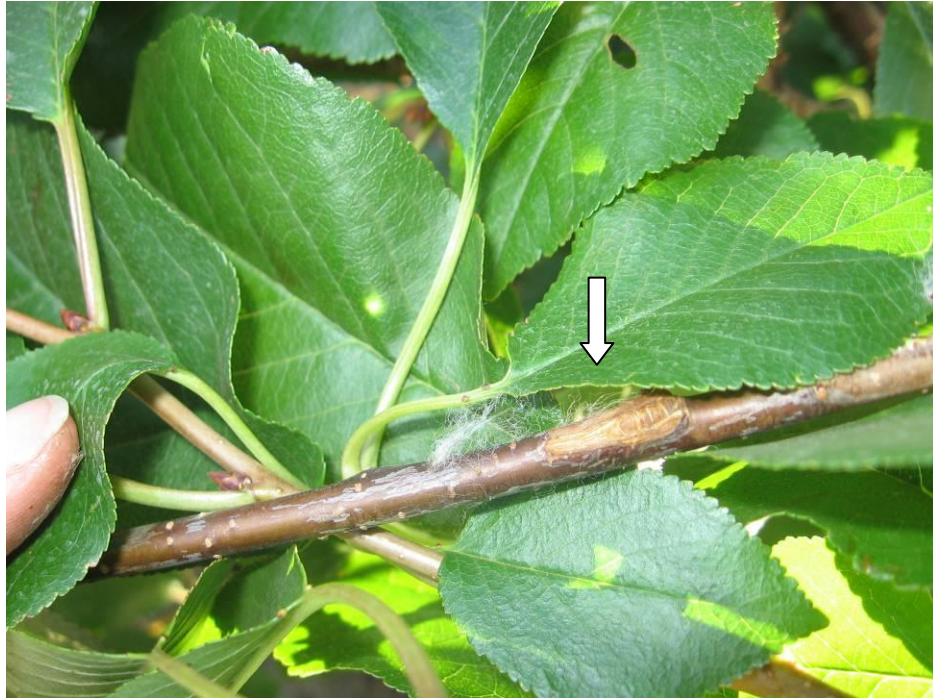
A 2007 évben végzett mesterséges fertőzéseknél nagyságrendekkel kisebb volt a nekrozis kiterjedése. Míg egy évvel korábban sok esetben a fertőzött vesszők a hajtáscsúcs végéig elhaltak, addig 2007-ben erre egyáltalán nem volt példa. A meggyről (Sz101) származó izolátum esetében a legnagyobb elhalást az Érdi jubileumon (átlag: 4,2cm), míg a legkisebb nekrozist a Kántorjánosi 3 fajtánál (átlag: 2,6cm) mértem (38. ábra).



**38. ábra** 2007 évben gyümölcseréskor végzett szabadföldi mesterséges fertőzés során keletkezett hánccselhalás mértéke cm-ben

A monília izolátumok minden esetben fertőzték a gazdanövényt, amelyet a kontroll adatokkal ellenőriztem (39. ábra). A kontrollnál nem tapasztaltam fertőzési tünetet, hanem egy elkalluszosodott, megvastagodott sebgyógyulást láttam. A különböző gazdanövényekről származó izolátumok agresszivitását vizsgálva megállapítottam, hogy nagyfokú változatosságot mutattak a meggy hánccszövetben való terjedésében a különböző évjáratban és a különböző fenológiai állapotban történt kezelések során. Míg a *M. laxa* izolátumoknál a 2006-os évben volt erőteljesebb a nekrozis, addig a *M. fructigena* izolátumnál 2007-ben.





**39. ábra** A vizes kontroll tünete az Érdi bőtermő meggyfajtán, a nyíl a kezelés helyét jelzi.

Az Sz80 *M. fructigena* izolátummal történt kezelések során mindkét évben hasonló mértékű értéket kaptam, azonban a fajták közötti különbség minimális volt. 2007-ben a legnagyobb elhalást az Érdi bőtermő fajtán okozott (átlag: 2,2 cm), azonban ez az érték alulmarad a *M. laxa* által kiváltott legkisebb elhalással szemben is. 2006-ban végzett mesterséges fertőzések során az Újfehértói fürtös fajtát fertőzte legerősebben (átlag: 2,1 cm).

A két éven keresztül megismételt szabadföldi mesterséges fertőzési kísérletben a vizsgált fajták fogékonysági sorrendje az alábbiak szerint alakult: a legellenállóbb fajta a Csengődi, majd az Érdi bőtermő, Érdi jubileum, Pándy 279, Kántorjánosi 3, Cigánymeggy 59 és végül az Újfehértói fürtös.

Az eredményeket kéttényezős varianciaanalízissel értékeltem. Az értékelésnél azt tapasztaltam, hogy míg az izolátumok és az egyes kezelések között van szignifikáns különbség, addig a fajták között nincs.

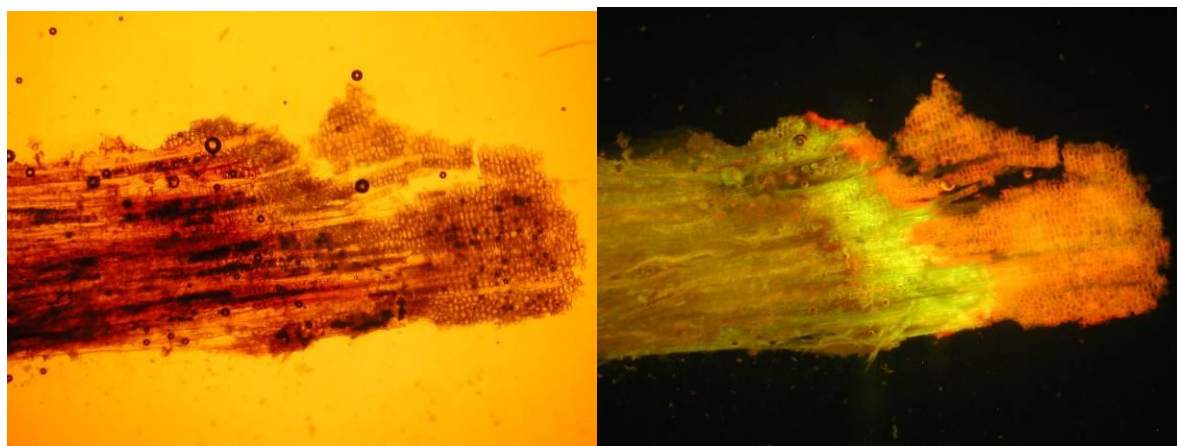
Kiemelem a 2006 és 2007 évek Sz80 izolátummal végzett fertőzésnél okozta elhalás statisztikai elemzését, amit a Mellékletek 14. táblázatában foglaltam össze. Láthatjuk, hogy a fajták között nincs, azonban az egyes években okozott nekrozis mértékében szignifikáns különbség van.

A két kísérleti évben alkalmazott meggyről származó izolátumok (Sz100 és Sz101) eredményeit a Mellékletek 15. táblázatában foglaltam össze. Láthatjuk, hogy ebben az esetben sincs a fajták között különbség, azonban az egyes izolátumok által okozott nekrozis mértéke között szignifikáns különbség van.

A monilíniás fertőzés következtében jelentkező mézgakiválás minden meggyfajtánál jelentkezett, azonban annak mértéke az egyes kezelések tekintetében változó volt. Volt olyan fajta ahol minden izolátummal történő fertőzés mézgasodást is okozott és volt olyan fajta is, ahol az egyik izolátumnál volt, a másikonál nem volt mézgakcsepp kiválás. Az Sz80 *M. fructigena* izolátum minden fajtánál erős mézgasodást váltott ki. A fajták tekintetében mindkét évben a toleráns Csengődi fajta mézgasodott a legjobban. Az Érdi bőtermő fajtán az Sz46 izolátummal történő fertőzést nem kísérte mézgasodás és a nekrosis kiterjedése is kismértékű volt. Az izolátumok közül az Sz46 *M. laxa* izolátummal történt fertőzést kísérte a legkevesebb mézgaképződés.

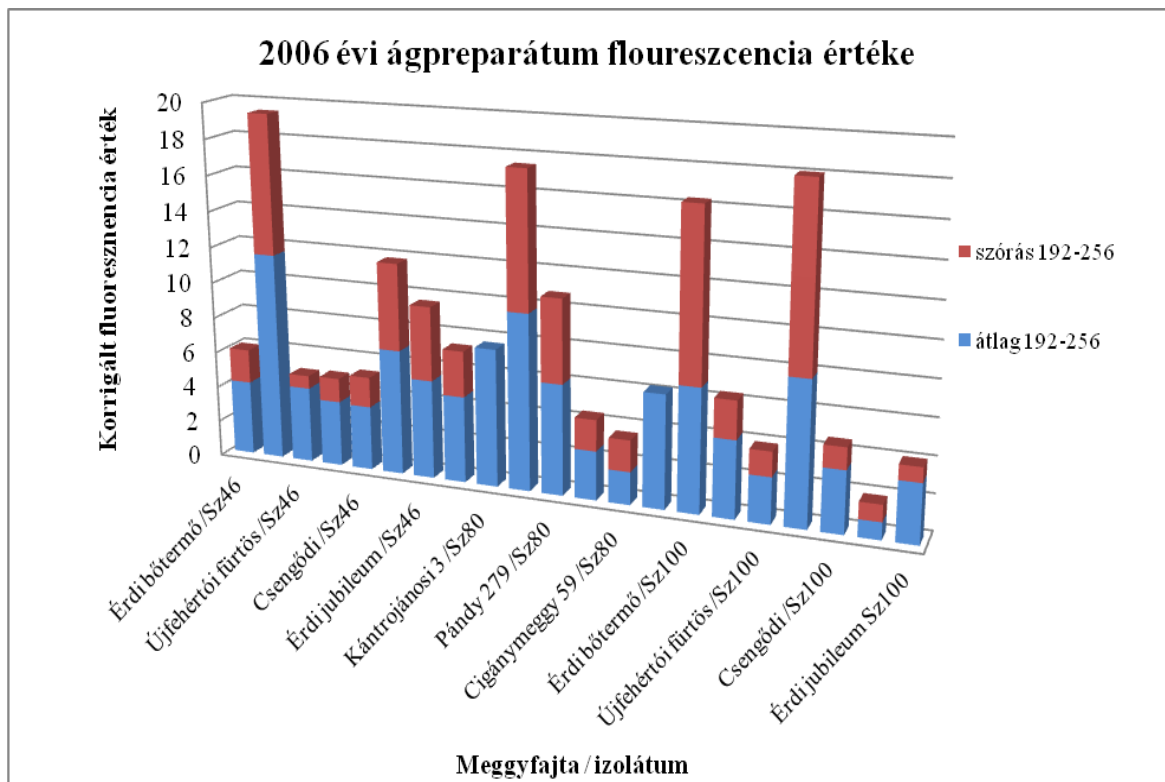
#### 4.3.5. A fertőzött háncsszövet vizsgálata fluoreszcens mikroszkóppal

A szövettani vizsgálatoknál a szabadföldi ágfertőzés következtében kialakult háncselhalást vizsgáltam fluoreszcens megvilágítás alatt (**40. ábra**).



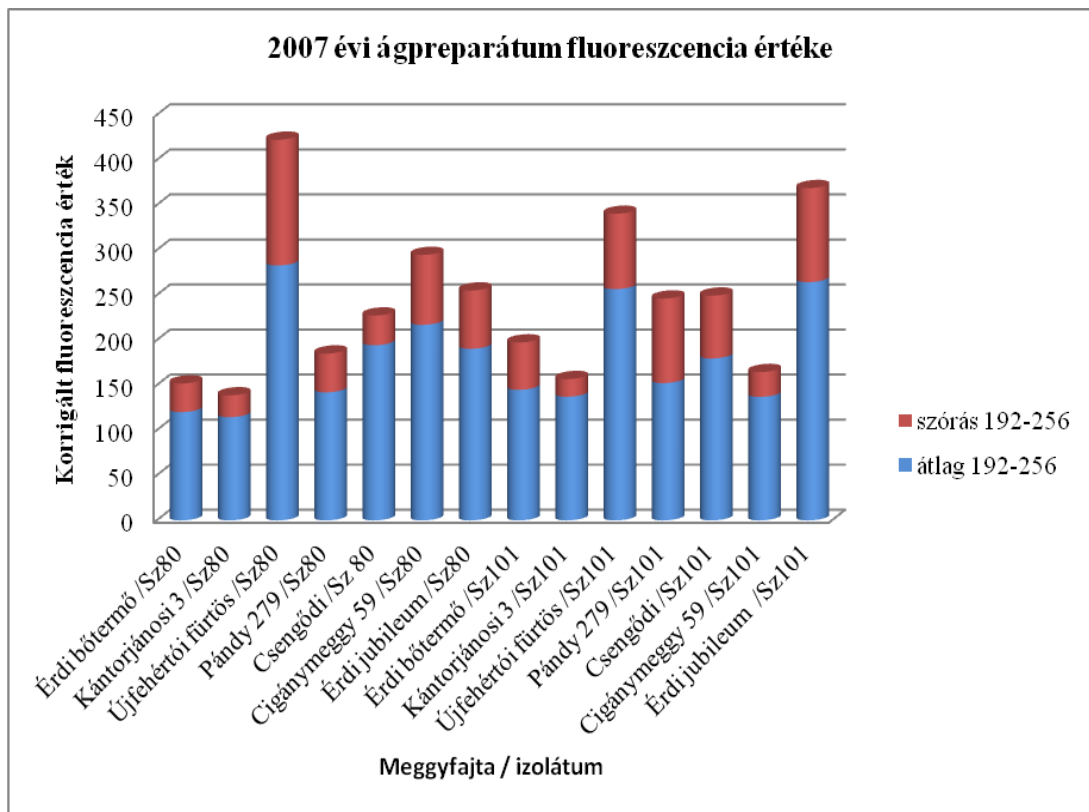
**40. ábra** Autofluoreszcencia a meggy háncsszövetében (bal oldali kép: normál megvilágítás, jobb oldali kép: fluoreszcens megvilágítás)

A 2006 és a 2007 évi eredmények nagyságrendekkel eltérnek egymástól, melyeket a Mellékletek 16. és 17. táblázatában közlök. Míg 2006-ban a korrigált fluoreszcencia értékek 10-ig terjednek, addig 2007-ben minden adatnak 100 feletti az értéke. A 2006-ból származó preparátumokon a legkisebb fluoreszcenciát a Cigánymeggy 59 fajtánál (0,95) mértem az Sz100 izolátumra reagálva, és összességében is ez az izolátum adta a legkisebb értékeket (**41. ábra**). A legnagyobb fluoreszcenciát a Kántorjánosi 3 fajta (11,62) adta az Sz46 izolátumra reagálva, és összességében is ez az izolátum adta a legnagyobb értékeket. Fajták közül a legkevésbé a Cigánymeggy 59, míg a legjobban a Kántorjánosi 3 preparátumok fluoreszkáltak.



**41. ábra** 2006 évi szabadföldi mesterséges ágfertõzés háncselhalásának fluoreszcens megvilágítással kapott értékek átlagai és szórása

A 2007 évbõl származó preparátumokon az Sz80 izolátummal történt kezeléseknél mértem a legkisebb és a legnagyobb fluoreszcenciát is (**42. ábra**). A legkisebb értéket a Kántorjányosi 3 fajtánál (114,56) mértem és ez a fajta adta összességében is a legkisebb fluoreszcenciát. A legnagyobb értéket az Újfehértói fûrtõsnél (282,96) mértem és ez a fajta adta összességében is a legnagyobb fluoreszcenciát.



**42. ábra** 2007 évi szabadföldi mesterséges ágfertőzés háncselhalásának fluoreszcens megvilágítással kapott értékek átlagai és szórása

A két kísérleti évet tekintve összességében megállapítottam, hogy az Sz80 *M. fructigena* izolátum által történt fertőzésnél nagyobb fluoreszcencia értéket kaptam, mint az Sz100 vagy Sz101 *M. laxa* izolátumok preparátumainál. Az egyes fajták fluoreszcencia erősségének sorrendje 2006 évben a legkisebbel kezdve a következő: Csengődi, Cigánymeggy 59, Érdi jubileum, Érdi bötermő, Pándy 279, Újfehértói fürtös, Kántorjánosi 3. 2007 évben szintén a legkisebbel kezdve az alábbi a sorrend: Kántorjánosi 3, Érdi bötermő, Pándy 279, Cigánymeggy 59, Csengődi, Érdi jubileum, Újfehértói fürtös.

Az adatokat kéttényezős varianciaanalízissel is megvizsgáltam és az eredményeket a Melléklet 18. és 19. táblázatában foglaltam össze. Az adatokból jól látható, hogy sem az izolátumok, sem a fajták között nincs szignifikáns különbség.

A fajták rezisztencia tulajdonságait a **8. táblázatban** foglaltam össze. Az *in vitro* ágfertőzéses kísérletnél mind a virágzási időben, mind a nyugalmi időben végzett kezelésnél az egyes fajták között szignifikáns különbség volt. A fajta érzékenység numerikus besorolásánál 1-től 7-ig számoztam, s a legellenállóbb fajta kapta az 1-es értéket, a legfogékonyabb, pedig a 7-es értéket. A közbenső értékeket a fertőzöttségi mértéket arányosítva adtam meg. Az *in vivo* ágfertőzési kísérletnél egyik évben sem volt a fajták között szignifikáns különbség, így a numerikus

fajtaleírás során a 7-es legfogékonyabb adatot vettem alapul és ahhoz viszonyítottam a többi fajtát. Megállapítható, hogy a fajta háncsszövetének ellenállóságának az állandóságát a növény egyedfejlődésének stádiuma befolyásolta, hiszen a sejtek és a növényi szövetek nem teljesen egyformák az egyes fenológiai fázisokban. Így az eredmények arra utalnak, hogy a növény háncsszövetében történő fertőzés mértéke inkább függ a fenológiai állapottól, mint az évjáráttól. Az izolátumok háncsszövetben történő agresszivitásánál azonban az évjáráthatásnak nagyobb szerepe volt, mint a fenológiai állapotnak.

**8. táblázat:** Az egyes kísérletek eredményei alapján, a fajták érzékenységek szerint kerültek besorolásra, ahol 1 - legkevésbé fertőződött (legellenállóbb a vizsgált fajták között), 7 - leginkább fertőződött (legfogékonyabb a vizsgált fajták között).

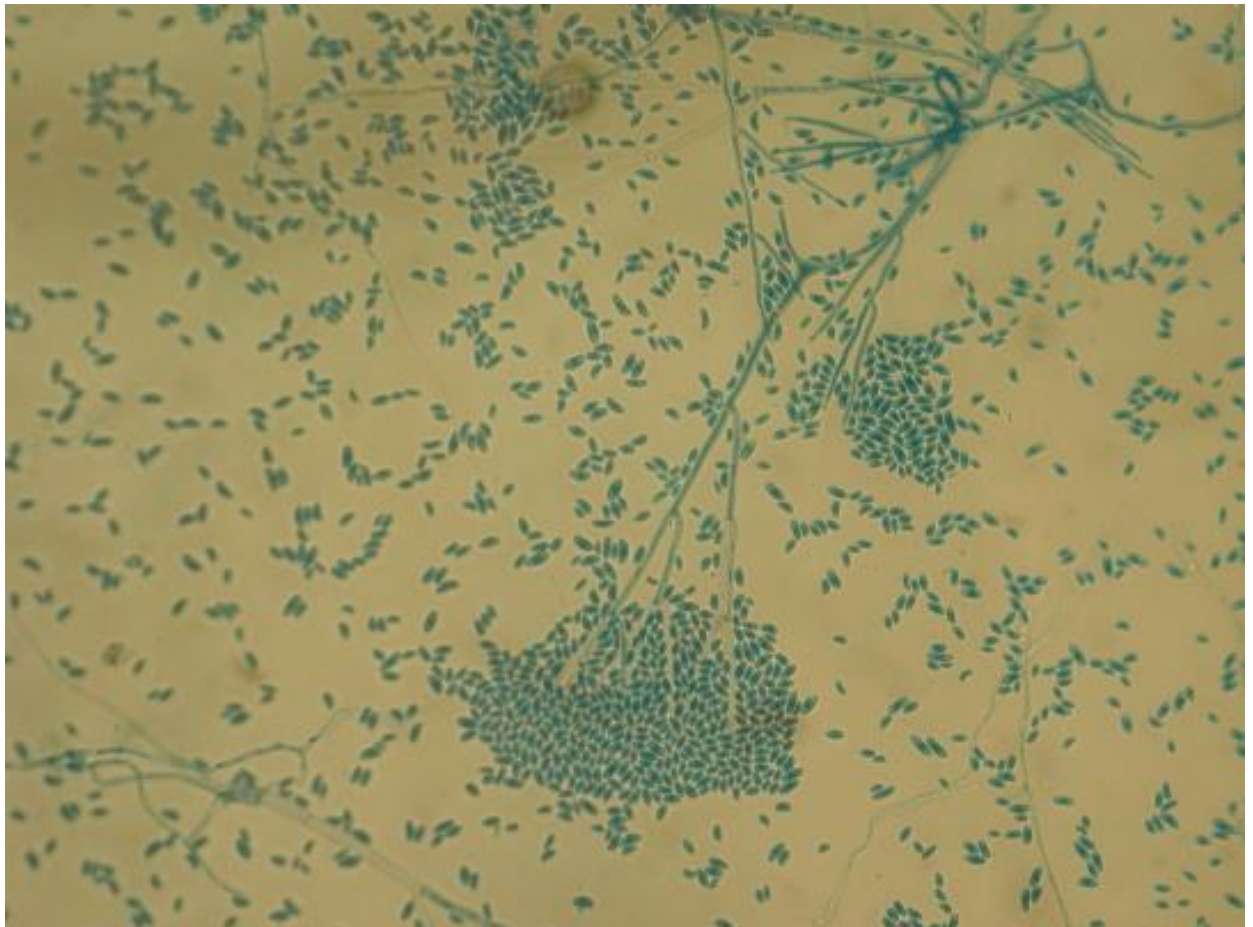
	Szignifikáns különbség az izolátumok között	Szignifikáns különbség a fajták között	Érdi bőtermő	Újfehértói fürtös	Kántorjánosi 3	Cigánymeggy 59	Érdi jubileum	Pándy 279	Csengődi
Ágfertőzés in vitro virágzásban	nem	igen	5	5	7	1	6	5	1
Ágfertőzés in vitro nyugalmi állapotban	igen	igen	4	4	7	1	2	6	1
Ágfertőzés in vivo 2006	igen	nem	6	7	7	7	6	6	4
Ágfertőzés in vivo 2007	igen	nem	6	5	5	6	7	5	7



## 4.4. A *Clonostachys rosea* mikoparazita alkalmazása

### 4.4.1. Az antagonista izolátum azonosítás

A *C. rosea* izolátum gyorsan nő és sporulál a paradicsom- agar táptalajon. Az általa képzett telep színe lazac színű. Konídiumaik egysejtűek, aprók, amelyek a *Penicillium* fajokéra hasonlító, ecsetszerű állású konídiumtartókon képződnek (**43. ábra**) (Rehner és Samuels, 1994; Yu és Sutton, 1997; Schroers et al., 1999).

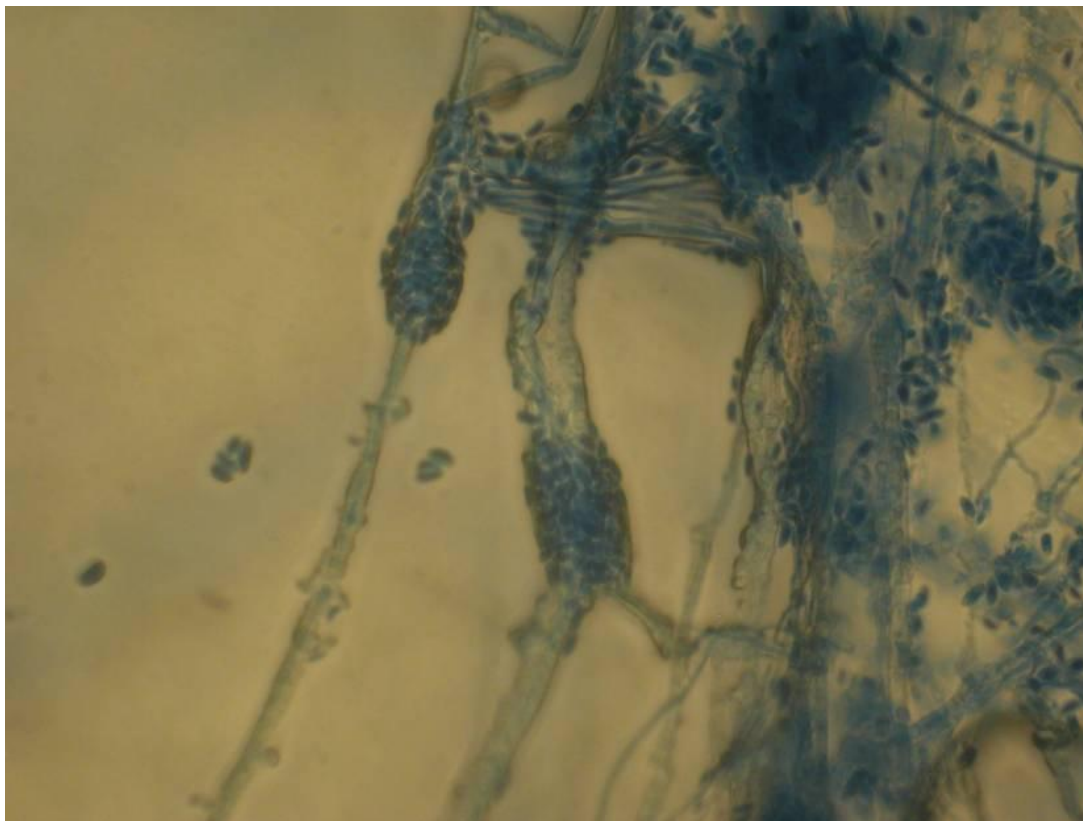


**43. ábra** *Clonostachys rosea* konídiumtartója és konídiuma

### 4.4.2. Antagonista hatásvizsgálat

Az antagonista vizsgálat során a maláta agar táptalajon a *M. laxa* és a *M. fructigena* kórokozók növekedése lassabb volt, mint a *C. rosea* antagonistáé.

A mikroszkópos vizsgálat során jól látható volt, hogy a *C. rosea* antagonista gomba a gazdagomba micéliumának körülölelésével hátráltatja a növekedését, fejlődését. A hiperparazita hifái vékonyak, belenőnek a gazdagomba vastagabb hifáiba, ahol a parazita fejlődése során konídiumtartót hoz létre és sporulál (**44. ábra**). A *M. laxa* és a *M. fructigena* parazita gomba *C. rosea* által történő parazitálásában nem volt különbség.



**44. ábra** *Monilinia laxa* micéliumában sporuláló *Clonostachys rosea*

A *C. rosea* szűrletével „mérgezett” táptalajon történt vizsgálat során megállapítottam, hogy a kontroll táptalajon és a kezelt táptalajon hasonló gyorsasággal nőttek a *M. laxa* és a *M. fructigena* izolátumok, tehát az antagonista gomba a monilíniákra ható antibiotikumot nem termelt.

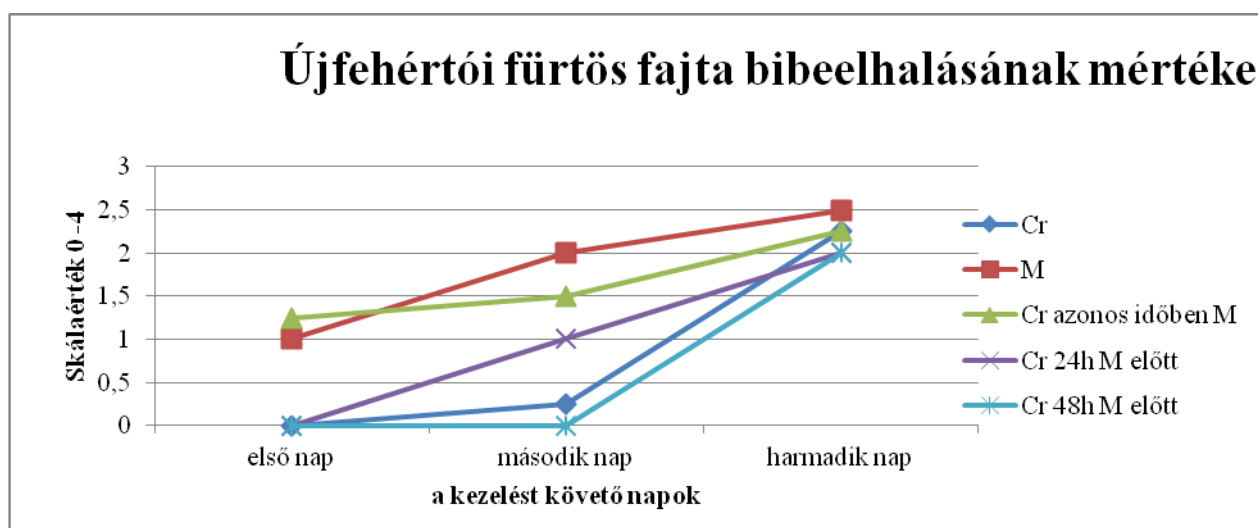
#### **4.4.3. Mesterséges bibefertőzés vizsgálat antagonistával, *in vitro***

A *M. laxa* és a *C. rosea* konídium szuszpenziójával a bibén végzett kezelések között szignifikáns különbség volt. Az elhalást 24 óránként értékeltem. Az egyes kezelések tekintetében a meggyfajták között találtam hasonló és különböző reakciókat. Minden esetben a kontroll kezelés nyújtott támpontot a kezelések igazolásához. Mind a hét meggyfajta esetében a kontroll bibék az első két napon szép egészséges zöldek voltak, majd a harmadik napon többé kevésbé megjelentek a természetes beszáradás jelei. A legerőteljesebb elhalást ekkor az Érdi jubileum (átlag: 1,25) bibéi, míg a legkisebb elhalást az Újfehértói fürtös (átlag: 0,00) bibéi mutattak.

Az eredményeimet a Mellékletek 20. táblázatában foglaltam össze. A csak *C. rosea* antagonistával kezelt bibék az első nap után szép üde zöldek. A második napon azonban a Kántorjánosi kivételével kisebb nagyobb mértékben a bibék elhalásnak indultak. Ezzel ellentétben a kórokozóval kezelt bibéknél már az első 24 órás időintervallumot követően tapasztaltam elhalást. Ez esetben a legnagyobb mértékű elhalást a Csengődi fajta esetében mértem. Az antagonista és a

kórokozó azonos időben történő infekciója során az egyes fajták eltérő eredményt adtak. A legkisebb elhalást a Pándy 279, a Kántorjánosi 3 és az Érdi jubileum esetében diagnosztizáltam, a legnagyobb elhalást pedig a Csengődi fajta esetében.

A kezelések eredményeit az Újfehértói fürtös fajta esetében szemléltetem a **45. ábrán**. Az ábrán jól látható, hogy a *M. laxa* kórokozóval kezelt bibék már a fertőzést követő első napon is mutattak elszíneződést. Hasonló elszíneződést mutatott a *C. rosea* antagonistával és *M. laxa* kórokozóval azonos időben kezelt bibék. Az első nap után a csak antagonistával kezelt bibék (ez esetben a Cr, Cr 24h M előtt, Cr 48h M előtt) szép egészségesek, üde zöldek. A második nap után annál a kezelésnél ahol az előző nap kapott *Monilinia* konídium szuszpenziót a bibe (Cr 24h M előtt), ott minden bibe esetében kisebb elhalást tapasztaltam. A harmadik nap után annál a kezelésnél, ahol az előző nap kapott *Monilinia* konídium szuszpenziót a bibe (Cr 48h M előtt), valamint a csak *C. rosea* antagonista konídium szuszpenziójával (Cr) kezelt bibéken az elhalás mértéke hasonló lett a korábban már kórokozóval kezeltékhez.



**45. ábra** Az Újfehértói fürtös fajta bibeelhalásának mértéke (skála alapján) a vizsgált időtartam alatt

Jelmagyarázat:

Cr - egyedül a *Clonostachys rosea* antagonista konídium szuszpenziójával kezelt bibe;

M - egyedül *Monilinia laxa* konídium szuszpenziójával kezelt bibe;

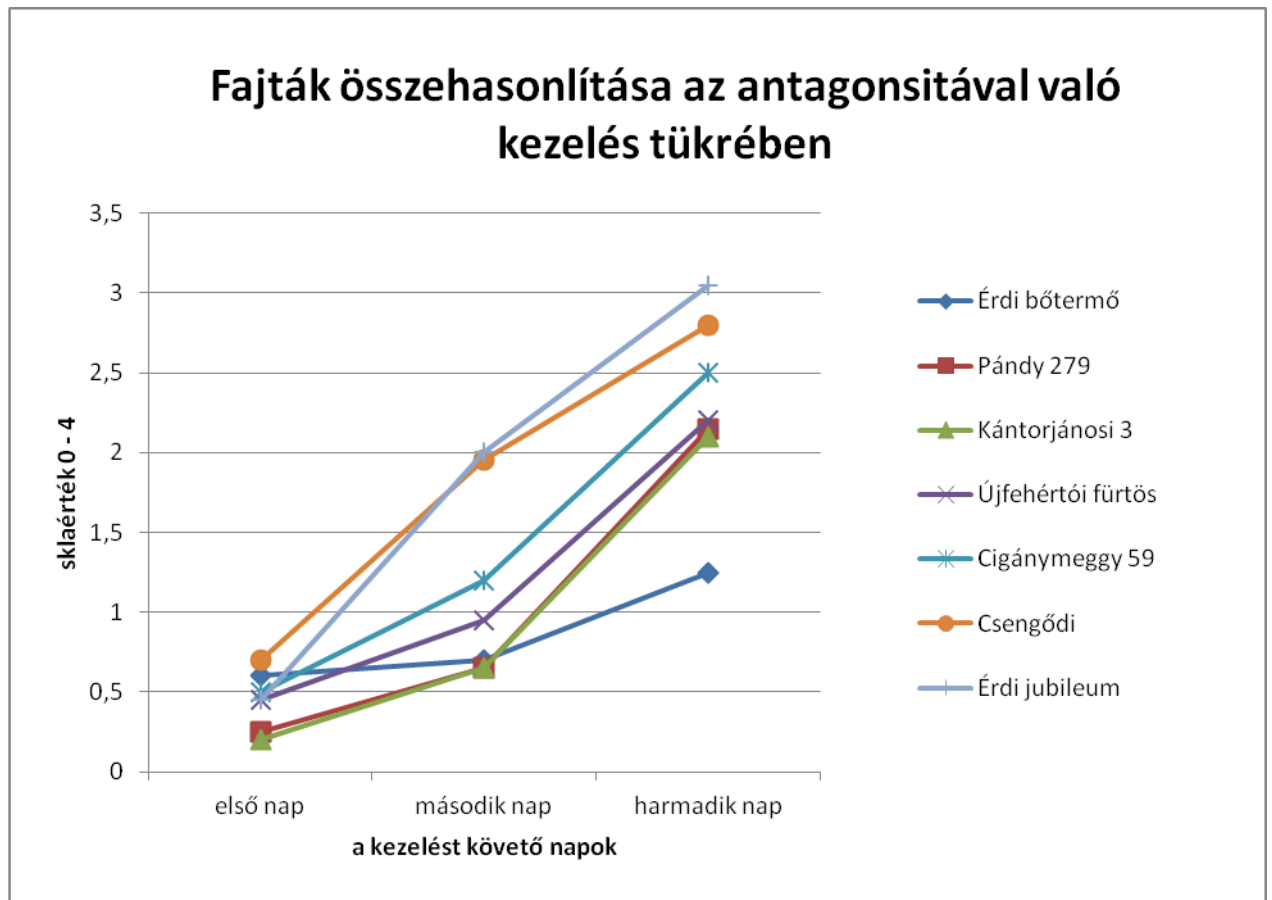
Cr azonos időben M: a *C. rosea* és a *M. laxa* konídium szuszpenziójával azonos időben történt a kezelés;

Cr 24h M előtt: a *C. rosea* konídium szuszpenziójával a kezelés 24 órával korábban történt mint a *M. laxa* konídium szuszpenziójával;

Cr 48h M előtt: a *C. rosea* konídium szuszpenziójával a kezelés 48 órával korábban történt mint a *M. laxa* konídium szuszpenziójával.



Az egyes fajták az egyes kezelésekre eltérő választ adtak. A legérzékenyebb az Érdi jubileum és a Csengődi fajták voltak, míg a legkevésbé volt érzékeny az Érdi bőtermő (46. ábra).

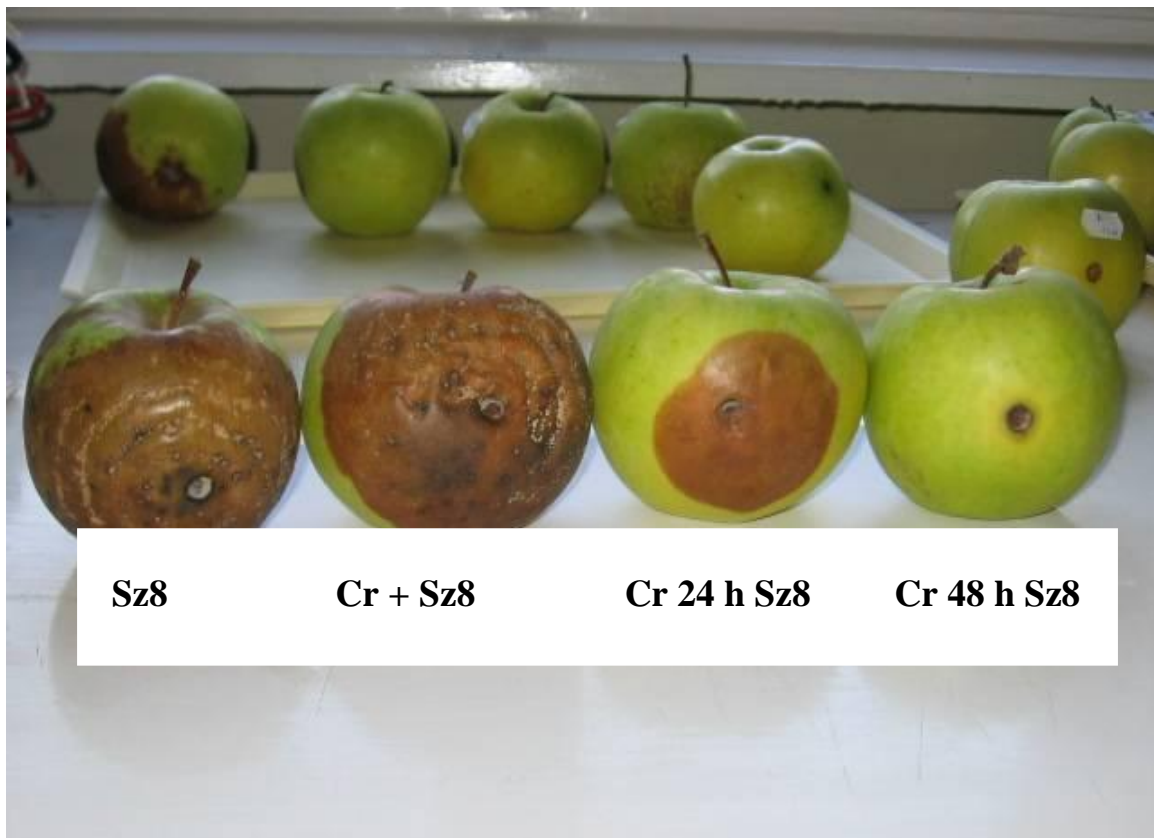


**46. ábra** A meggyfajták reakciója az antagonista - kórokozó bifertőzési vizsgálat során az eltelt napok függvényében.

Az eredményeket kéttényezős varianciaanalízissel értékeltem, melyet a Mellékletek 21. táblázata tartalmaz. Az eredményekből jól látható, hogy szignifikáns különbség van az egyes fajták között és az egyes eljárások között.

#### 4.4.4. Mesterséges gyümölcsfertőzés vizsgálat antagonistával

A *M. laxa*, a *M. fructigena* és a *C. rosea* alma gyümölcs fertőzése között a 8 nap inkubációt követően szignifikáns különbség volt. A legnagyobb nektrózist a csak *Monilinia* izolátummal kezelt gyümölcs esetében mértem. A *C. rosea* antagonista önmagában nekrotikus tünetet nem váltott ki, és a csak *Monilinia* kórokozóval kezelthez képest az egyes eljárások során a nektrózis kiterjedését csökkentette. Vizsgálatomban a kórokozó és az antagonista azonos időben történő alkalmazása során az egyes izolátumok tekintetében eltérést találtam (47. ábra). Az eredményeket a Mellékletek 22. és 23. táblázatában közlöm.



**47. ábra** Eredmény az infekciót követő 8-dik napon

Jelmagyarázat:

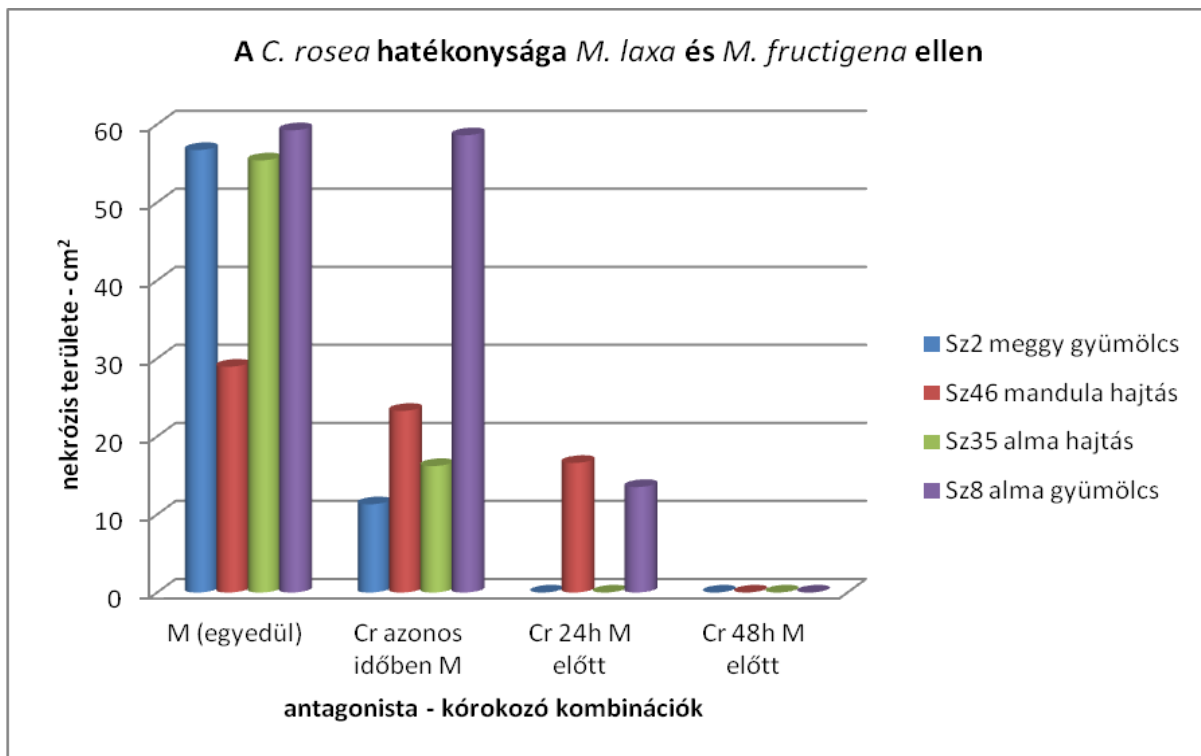
Sz8: alma gyümölcsről származó izolátummal való fertőzés;

Cr + Sz8: a *Clonostachys rosea* antagonista és az Sz8 *Monilinia fructigena* izolátum azonos időben történő infekciója;

Cr 24 h Sz8: A *C. rosea* antagonista és a 24 órával később Sz8 *M. fructigena* kórokozóval fertőzött alma;

Cr 48 h Sz8: A *C. rosea* antagonista és a 48 órával később Sz8 *M. fructigena* kórokozóval fertőzött alma.

Az Sz8 (*M. fructigena*) alma gyümölcsről származó izolátummal szemben az antagonista szinte semmilyen elnyomó hatást nem tudott kifejteni (**48. ábra**), annak ellenére, hogy az Sz2 (*M. laxa*) meggy gyümölcsről és az Sz35 (*M. fructigena*) alma hajtásról származó izolátumok esetében 70 és 80 %-ot is elért a gátló hatás a csak kórokozóval kezelthez képest. Ennél a két izolátumnál a 24 órával korábban kihelyezett antagonista teljes mértékben el tudta nyomni a kórokozót. Mindhárom izolátum esetében a 48 órával korábbi kezelés teljes gátló hatást mutatott. Az Sz46 (*M. laxa*) mandula ágról származó izolátum fele olyan mértékű nekrotikus tünetet produkált, mint a többi izolátum. Ennek ellenére az antagonistával történt kezelések során a fertőzés mértéke hasonló a többi izolátumhoz, s így a 48 órával korábbi antagonista kezelésnél teljes a gátló hatás. A kontroll almán illetve a csak *C. rosea* micéliummal kezelt almán nem volt elhalás.



**48. ábra** *Clonostachys rosea* hatékonysága *Monilinia laxa* és *Monilinia fructigena* kórokozókkal szemben alma gyümölcsön

Jelmagyarázat:

M egyedül: csak *M. laxa* illetve *M. fructigena* micéliumkorongot helyeztünk a sebésbe;

Cr azonos időben M: *C. rosea* és azonos időben *Monilinia* micéliumkorongot helyeztünk a sebésbe;

Cr 24h M előtt: *C. rosea* antagonistaival 24 órával korábban fertőztünk, mint a *Monilinia* izolátummal;

Cr 48h M előtt: *C. rosea* antagonistaival 48 órával korábban fertőztünk, mint a *Monilinia* izolátummal.

Az értékelést kéttényezős varianciaanalízissel végeztem, melyet a Melléklet 24. táblázata tartalmaz. Megállapítottam, hogy az egyes eljárások között szignifikáns különbség van, viszont az egyes gomba izolátumok között nincs.

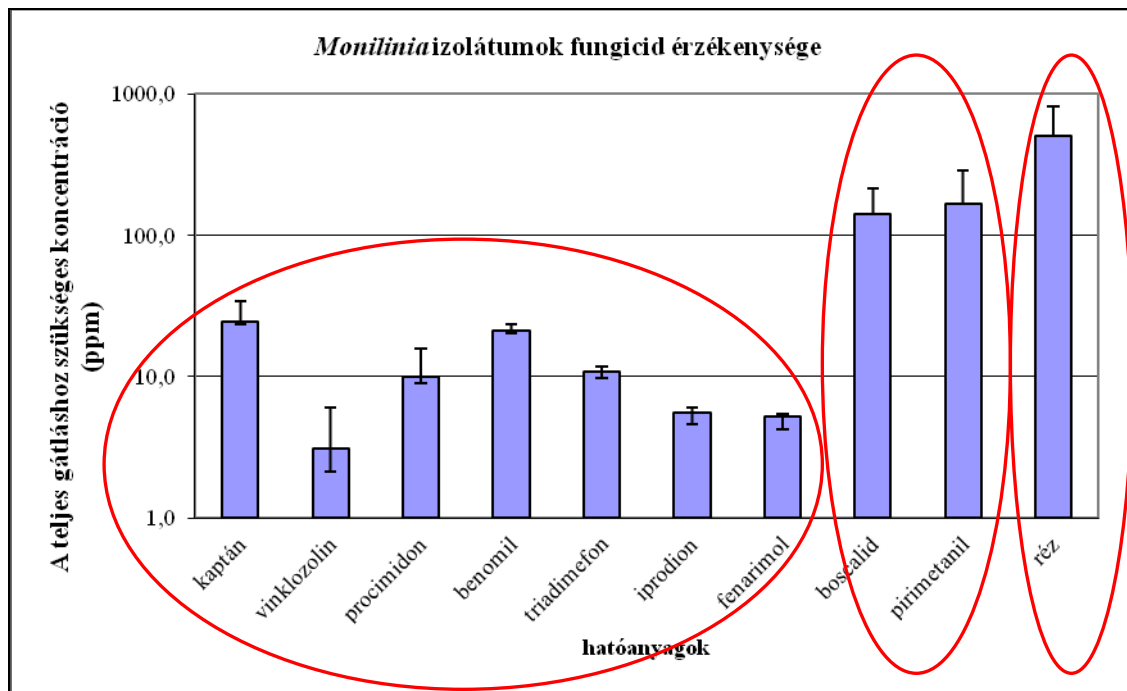
## 4.5. A *Monilinia* izolátumok fungicid érzékenysége

### 4.5.1. Fungicid érzékenység vizsgálat

A fungicid érzékenységi vizsgálatnál a teljes gátláshoz szükséges (MIC) legkisebb koncentráció átlagát számoltam ki a vizsgált *Monilinia* izolátumonként és a vizsgált fungicidenként, melyet a Mellékletek 25. táblázata tartalmaz. A monília izolátumok mérgezett táptalajon való növekedésének teljes gátlásához szükséges legkisebb koncentráció (MIC) alapján a hatóanyagokat 3 csoportba soroltam.

- Az első csoportba azok a hatóanyagok tartoztak, ahol a MIC érték 0 és 50 ppm között volt. Ide tartozott: a benomil, a vinklozolin, az iprodion, a fenarimol, a procimidon, a triadimefon és a kaptán hatóanyagok.
- A második csoportba azok a hatóanyagok tartoztak, ahol a MIC érték 50 és 500 ppm között volt. Ebbe a csoportosításba tartozott a pirimetanil és a boscalid hatóanyagok.
- A harmadik csoportba egyedül a réz hatóanyag tartozott, ahol a MIC érték 200 és 1500 ppm között változott izolátumonként.

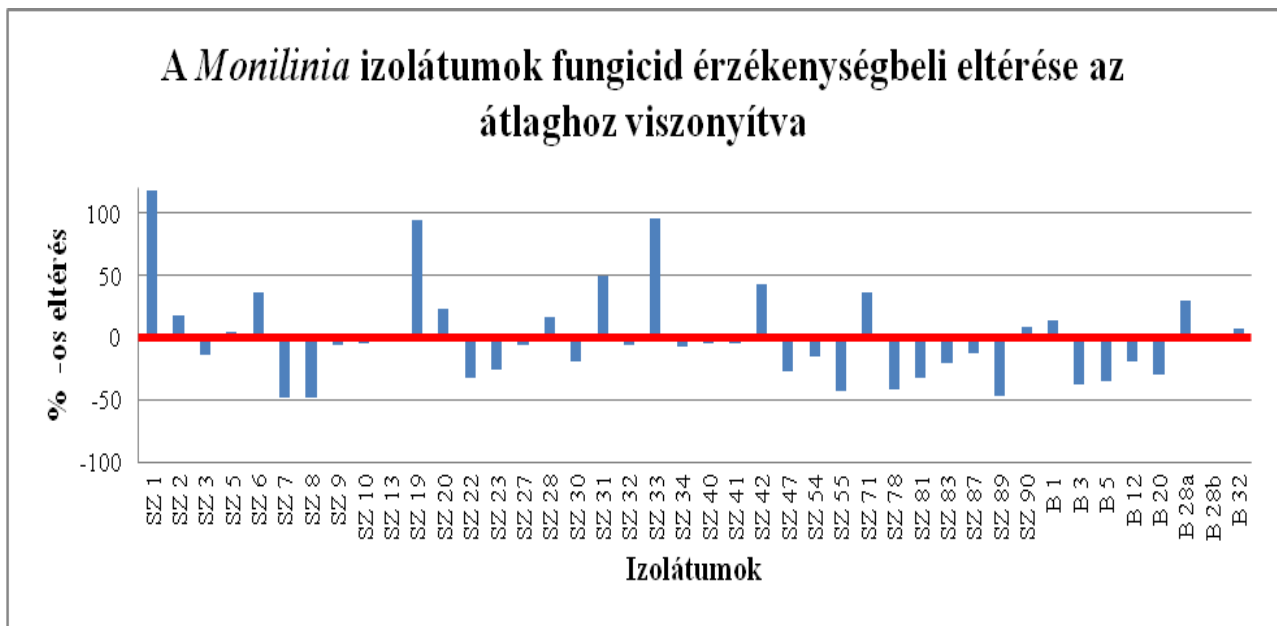
Az első csoportba tartozó 7 hatóanyag közül az izolátumok növekedésének teljes gátlásához szükséges legkisebb átlag MIC értéket a vinklozolin esetében (átlag: 3,11 ppm), míg a legnagyobb átlag MIC értéket a kaptán esetében (átlag: 24,49 ppm) mértem (**49. ábra**). Habár a vinklozolin értéke kicsi, de a szórás nagy (2,87ppm), hiszen a legmagasabb érték 12,83 ppm (Sz7), míg a legkisebb értéket a 0,32 ppm (Sz71). Az iprodionra és a fenarimolra adott reakciók hasonlóak, és a szórás is kicsi (iprodion átlag: 5,58 ppm, szórás: 0,39; fenarimol átlag: 5,24 ppm, szórás: 0,13). Hasonló átlagot kaptam a procimidon és a triadimefon hatóanyagoknál (procimidon átlag: 10,01 ppm; triadimefon átlag: 10,81 ppm), annak ellenére, hogy az procimidon esetében a legnagyobb szükséges koncentráció 37 ppm (B12). A kaptánhoz hasonlóan magas a MIC értéke a benomilnak is (21,29 ppm), bár az egyes izolátumok reakciója közötti eltérés csekély, amelyet az alacsony szórás is mutat (2,07 ppm). Összességében ebben a csoportba a legnagyobb MIC értéket a kaptán hatóanyag Sz5 izolátum esetében mértem (49,98 ppm).



**49. ábra** A vizsgált *Monilia* izolátumok teljes gátlásához szükséges (MIC) kaptán, vinklozolin, procimidon, benomil, triadimefon, iprodion, fenarimol, boscalid, pirimetanil és réz koncentráció értékek az izolátumok átlagában (ppm).

A második csoportba tartozó fungicidek esetében az izolátumok növekedésének teljes gátlásához szükséges legkisebb koncentráció már 50 ppm is lehet (boscalid, Sz 3 izolátum), viszont vannak olyan izolátumok ahol ez az érték 500 ppm (pirimetanil, Sz42 izolátum). Érdekes, hogy a növekedés teljes gátlásához szükséges legkisebb mennyiség mind a boscalid (50 ppm), mind a pirimetanil hatóanyag (52,08 ppm) esetében az Sz3 meggyről származó izolátumnál kaptam. Mint ahogy az **49. ábrán** is látható, a boscalid és a pirimetanil hatóanyagok esetében az izolátumok gátlásában átlagban kevés az eltérés (boscalid átlag: 136,02 ppm; pirimetanil átlag: 166,82 ppm), azonban a szórás a pirimetanil hatóanyag esetében kétszer akkora (boscalid szórás: 52,0105ppm, pirimetanil szórás: 112,31 ppm). A réznél az izolátumok teljes gátlásához szükséges legkisebb koncentráció 205,78 ppm (B20), míg a legnagyobb koncentráció 1441,12 ppm (Sz19). Az izolátumok átlagában a szükséges koncentráció 479, 17 ppm, de az értékek szórása 297,85 ppm.

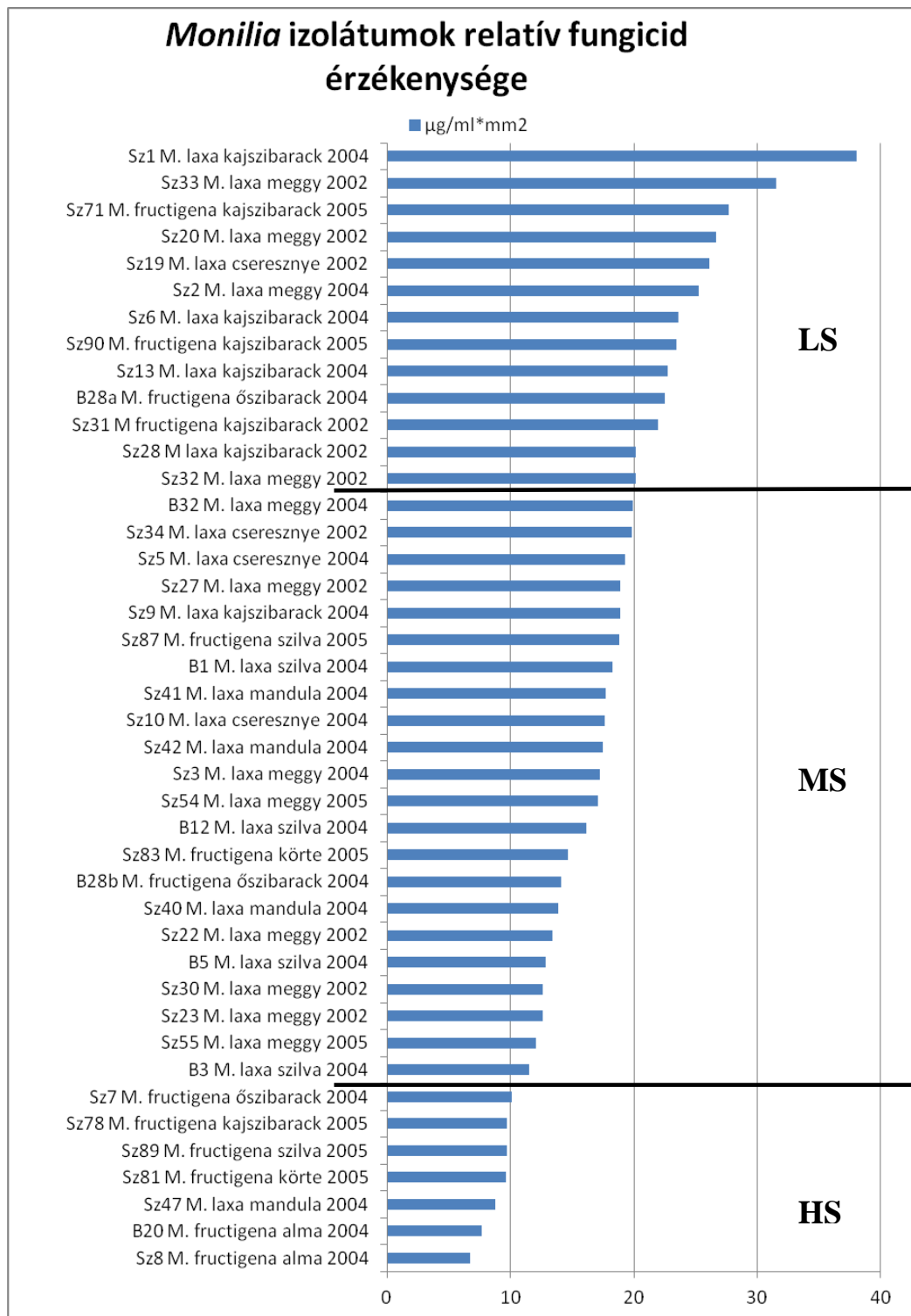
Az izolátumok eltérő érzékenységét aszerint ábrázoltam, hogy 0%-nak vettem az összes fungicidre adott átlagos izolátum adatot. Így az **50. ábrán** jól látható, hogy az átlaghoz képest az egyes izolátumok esetében milyen eltérések vannak. Jól látható, hogy az Sz1, az Sz19 és az Sz33 izolátumoknak az átlaghoz képest kétszeres koncentráció mennyiség szükséges a teljes gátlásukhoz, míg a Sz7, az Sz8 és az Sz89 izolátumok esetében már fele koncentráció mennyiségénél is megvalósult a teljes gátlás.



**50. ábra** Az egyes izolátumok fungicid érzékenységének eltérése az átlagtól, ahol a 0 % az összes fungicidre adott átlagos izolátum érzékenység.

#### 4.5.2. *Monilinia* izolátumok relatív érzékenysége

A laboratóriumi vizsgálataim alapján minden izolátum érzékeny volt a vizsgálatba vont fungicidekre, de az érzékenység mértékében eltértek. Relatív érzékenységüket ábrázoltam az **51. ábrán**, és három csoportba soroltam az izolátumokat érzékenységük szerint (Mellékletek 26. táblázat) (Leroux et al., 1999). Magas az érzékenységi szintje (HS - High Sensitivity) azoknak az izolátumoknak, amelyek a 0 és 10  $\mu\text{g/ml}\cdot\text{mm}^2$  érték közé esnek a relatív érzékenység alapján, azaz alacsony hatóanyag koncentráció is elégséges a teljes gátlásukhoz. Közepes érzékenységű csoportba (MS - Medium Sensitivity) tartoznak azok az izolátumok, amelyek 10 és 20  $\mu\text{g/ml}\cdot\text{mm}^2$  érték közé esnek. Alacsony érzékenységű csoportba (LS- Low Sensitivity) tartoznak azok az izolátumok, amelyeknek több, mint 20  $\mu\text{g/ml}\cdot\text{mm}^2$  érték szükséges a gátlásuk teljes kifejtéséhez.

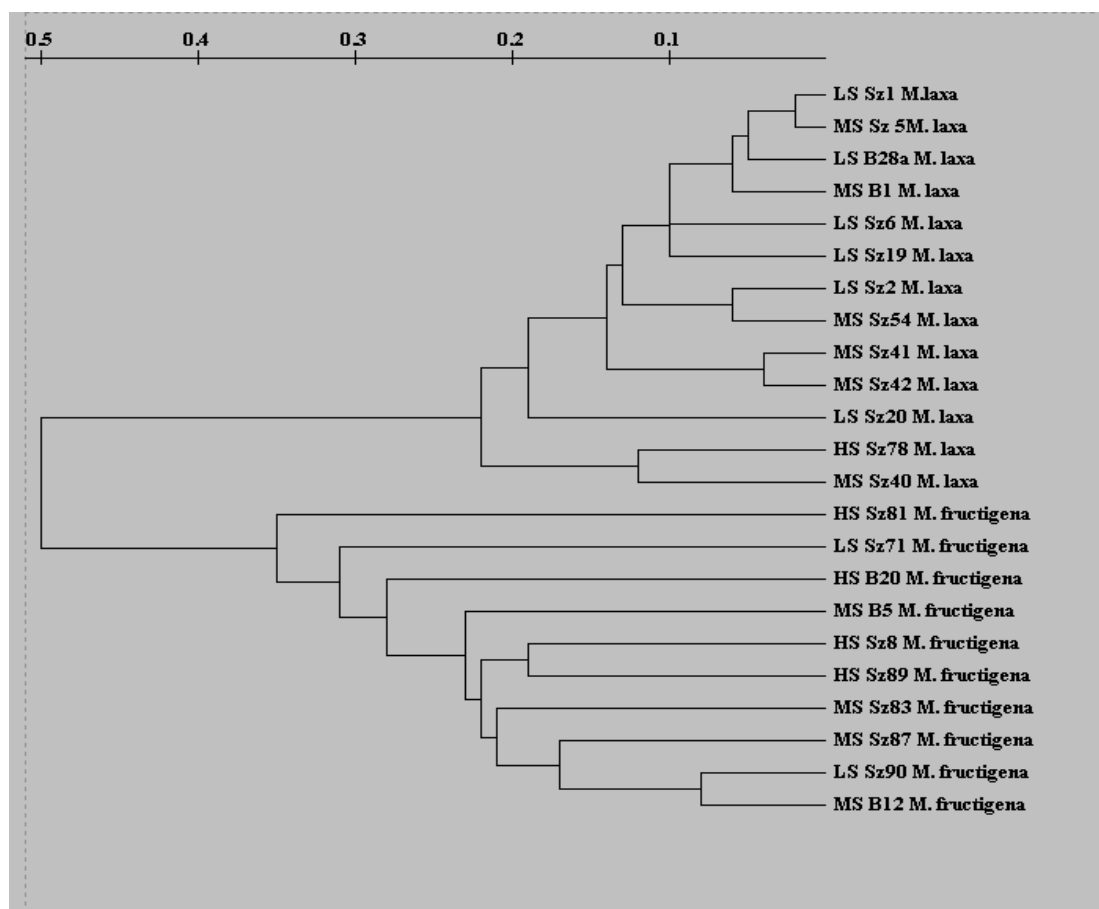


**51. ábra** A vizsgált *Monilinia laxa* és *Monilinia fructigena* izolátumok fungicid érzékenységének relatív különbsége. HS - magas érzékenységű csoport, melyeknek a teljes gátlás eléréséhez alacsonyabb koncentráció elegendős. MS - közepes érzékenységű izolátumok. LS - alacsony érzékenységű izolátumok, azaz magasabb hatóanyag koncentráció szükséges a teljes gátláshoz.

Az ábra alapján megállapítottam, hogy a HS - magas érzékenységű csoportban a *M. fructigena* izolátumok vannak többségben, míg a LS- alacsony érzékenységű csoportban a *M. laxa* izolátumok.

## Fungicid érzékenység a genetikai vizsgálat eredményeivel összevetve

A fungicid érzékenység alapján történő besorolást összevettem a genetikai vizsgálat eredményeivel. A genetikai vizsgálatnál használt 45 izolátumból 23 izolátumnál végeztem el a fungicid rezisztencia vizsgálatokat (**52. ábra**). Megállapítottam, hogy szelekciós nyomást a fungicid érzékenység alapján nem mutatható ki. Ezt jól szemlélteti az azonos ágból induló Sz40 és Sz78 *M. laxa* izolátumok, melyek közepes és magas érzékenységű csoportba tartoznak. Az Sz90 és a B12 *M. fructigena* izolátumoknál, az Sz1 és az Sz5 *M. laxa* izolátumoknál, melyek azonos ágból indulnak, a fungicid érzékenységet tekintve az egyik izolátum az alacsony, míg a másik izolátum a közepes érzékenységű csoportba tartozik.



**52. ábra** A fungicid érzékenységi vizsgálatba vont 23 magyarországi *Monilinia laxa* és *Monilinia fructigena* izolátumok iSSR mintázata alapján készült filogenetikai törzsfá, megjelölve az adott izolátumok fungicid érzékenység szintjét (HS: magas érzékenységű; MS: közepes érzékenységű; LS: alacsony érzékenységű).



## 4.6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Munkám során az alábbi új tudományos eredményeket fogalmaztam meg:

1. A genetikai vizsgálat alapján megállapítottam, hogy a hazai *Monilinia fructigena* populációban nagyobb a genetikai diverzitás, mint a hazai *Monilinia laxa* populációban. Ezen fajokon belül, az általam vizsgált genomi szinten nem tudtam sem gazdanövény, sem évjárat, sem földrajzi származás szerinti specializációt elkülöníteni.
2. Először vizsgáltam fluoreszcens technikával a *Monilinia laxa* gombával fertőzött bibeszövetet, mely során megállapítottam, hogy a kórokozóval fertőzött bibeszövet minden esetben kisebb fluoreszcencia értéket mutatott, mint a pollennel kezelték. Az eredményekből megállapítottam, hogy a nekrozis mértéke és a fluoreszcencia erőssége között nincs összefüggés.
3. Megállapítottam, hogy a meggy fajták háncsszövetének ellenállóságát és annak állandóságát a növény egyedfejlődésének állapota befolyásolta leginkább, míg az izolátumok agresszivitási képességét az időjárási körülmények.
4. Először vizsgáltam fluoreszcens technikával a *Monilinia* kórokozóval fertőzött háncsszövetet, és megállapítottam, hogy a fertőzés mértékét és a fluoreszcencia erősségét a hánccs differenciálódása nagymértékben befolyásolta.
5. Elsőként tártam fel fénymikroszkóppal a *Clonostachys rosea* mikoparazita és a *M. laxa* és *M. fructigena* közötti interakciót. Megállapítottam, hogy az antagonista körülöleli a kórokozó hifáját, behatol abba, és ott akár eljut a fejlődés azon szakaszába mikor sporulálni is képes.
6. Megállapítottam, hogy a *C. rosea* mikoparazita hatékony antagonistája a *Monilinia* fajoknak. Képes gátolni a gyümölcsfertőzés kialakulását. Vizsgálataim során hiperparazitizmust találtam, de antibiózist nem.
7. Először vizsgáltam a magyarországi *M. laxa* és *M. fructigena* izolátumok fungicid érzékenységét, ahol az egyes izolátumok teljes gátlásához szükséges koncentrációkban nagyfokú szórást tapasztaltam.
8. Megállapítottam, hogy a *M. laxa* izolátumok általában kevésbé érzékenyek a fungicidekre, mint a *M. fructigena* izolátumok, azaz teljes gátlásukhoz magasabb hatóanyag koncentrációra van szükség.



## 5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

### 5.1. A *Monilinia* fajok variabilitási vizsgálata

Keresve a magyarázatot az elmúlt évtizedek egyre nagyobb járványt előidéző *Monilinia* fertőzésekre, valamint a populációban bekövetkező esetleges változásokra és annak mértékére genetikai vizsgálatot végeztünk. A hazánk különböző termőhelyeiről, gyümölcsfajairól és különböző évekből gyűjtött izolátumokat Ioos és Frey (2000) módszere alapján azonosítottuk. A kísérletbe 24 *M. laxa* és 20 *M. fructigena* izolátumot vontunk be. A vizsgálatokat elvégeztük egy *M. fructicola* izolátummal is.

A begyűjtött izolátumok genetikai variabilitását tanulmányoztuk. Az általunk kipróbált 7 iSSR primer közül 5 jól működött, és 52 jól elkülöníthető terméket adott. Mind az 5 primer alkalmas volt a *Monilinia* fajokon belüli különbségek megállapításához. Ez a technika megbízhatóbb eredményt nyújt, mint a RAPD markerek (McDermott és McDonald, 1993; Weising et al., 1995), és hatásos eszköz a populáció genetikai tanulmányozásához (Zietkiewicz et al., 1994; Weising et al., 1995; Hantula et al., 1996; Snyder és Jones 1999; Ma et al., 2001; Boehm et al., 2003; Ma et al., 2003a). A *M. laxa* populáción belüli diverzitását Förster és Adaskaveg (2000) kaliforniai ültetvényekben már tanulmányozták RAPD markerekkel, és alacsony fokú variabilitásról számoltak be. Európában először Gell és munkatársai (2007) Spanyolországból származó *M. laxa* populációt tanulmányoztak RAPD markerekkel. 21 *Monilinia laxa* izolátumot gyűjtöttek különböző ültetvényből, különböző évből és különböző gazdanövényről. A populáció struktúrájának analízise során egy ültetvényen belül 97%-os genetikai diverzitást tártak fel, míg az ültetvények között mindössze 3%-nyit. Ezzel ellentétben a különböző gazdanövényről, különböző termőhelyről és különböző évjáratból származó magyarországi *M. laxa* izolátumok között 31,89%-os eltérést tapasztaltunk, míg az ültetvényeken belüli eltérés 36,57 %-os volt. A Nei féle genetikai diverzitás számítását (Nei, 1987) alkalmazva Gell és munkatársai (2007) arra a következtetésre jutottak, hogy a szubpopulációkban a genetikai diverzitás  $H_S = 0.567$ , míg a genetikai diverzitás a szubpopulációk között  $D_{ST} = 0.018$ . A mi eredményeink szerint a hazai *M. laxa* populációban a genetikai diverzitás  $H_S = 0.1599$ . A vizsgálatokat magyarországi *M. fructigena* populáción is elvégeztük, ahol a genetikai diverzitás  $H_S = 0.2551$ , míg a *M. laxa* és a *M. fructigena* populációk között a diverzitás  $D_{ST} = 0.1771$ . A hazai *M. fructigena* kórokozó genetikai variabilitása fajon belül 49,57 %, míg az ültetvényeken belüli variabilitás 45-50%. Említést érdemel, hogy egy vegyes gyümölcsfajtákat tartalmazó ültetvényből egy körtefáról származó *M. fructigena* izolátumok változékonysága 45,71 %-os. Szalóki (2011) szintén magyarországi *M. fructigena* izolátumokat vizsgált 10 iSSR primerrel, és hasonlóan nagyfokú (51,9%) genetikai változékonyságról számolt be.

A *M. laxa* és a *M. fructigena* fajok jól elkülönülnek egymástól. Tehát ez a módszer alkalmas a faji elkülönítésre is, ahogy azt tette Snyder és Jones (1999) *M. laxa* és *M. fructicola* esetében. Az a tény, hogy a dendogrammon ilyen nagyfokú eltérést tapasztaltunk a hazánkban is zárlati kórokozóval kapcsolatban azt bizonyítja, hogy a hazánkban ez idáig jelenlévő *Monilinia* fajoktól filogenetikailag távol áll. Magyarországon a kórokozó megtelepedését valamelyest gátolhatja az, hogy a levegő páratartalma általában alacsonyabb a gyümölcsfejlődés idején, összehasonlítva azokkal a területekkel, ahol a kórokozó természetes körülmények között előfordul.

A populációk genetikai evolúciójának tanulmányozásához fontos felfedni az esetleges gazdanövény specializációt is. Hasonlóan Gell és munkatársai (2007) eredményeihez, nem találtunk sem évjárat, sem gazdanövény szerinti specializációt. Ez, valamint az MP-PCR-rel kimutatott populációk közötti és populáción belüli nagyfokú variabilitás is arra enged következtetni, hogy nem alakult ki gazdanövény specifikáció.

Gril és munkatársai (2008) AFLP technikát alkalmazott a *M. laxa* intraspecifikus variabilitásának jellemzéséhez. Megállapították, hogy az izolátumok között magas a genetikai variabilitás, azonban sem gazdanövény specifikációt, sem földrajzi származás szempontjából nem tudtak elkülöníteni klasztereket. A földrajzi származás szerinti populáció diverzitást tanulmányozták Fan és munkatársai (2010) Kínából, Kaliforniából, USA-ból és Új Zélandról származó *M. fructicola* izolátumoknál. A vizsgálatokat ők is iSSR markerekkel végezték és 87,5% polimorfizmust tapasztaltak. Az mi eredményeink sem mutattak ki földrajzi hely szerinti klasztert, ahogy a szintén hazai izolátumokkal dolgozó Szalóki (2011) eredményei sem.

A globalizálódott kereskedelemmel a földrajzi izoláció megszűnt, ami azt a veszélyt rejti magában, hogy a fajoknak és a fajon belül eltérő tulajdonságú biotípusoknak, fiziológiai rasszoknak korlátlan lehetősége van a kontinensek és az országok közötti terjedésre (Vajna, 2007). A szállítmányokkal és a levegő által szállított konídiumokkal könnyen eljutnak a kórokozók az egyik helyről a másikra (immigráció). Ha valahol megjelenik egy olyan genotípus amelyiknek nagyobb a patogenitása vagy agresszívebb, esetleg fungicid rezisztens, vagy megfigyelhetően specializálódott egy adott gazdanövényre, akkor az könnyen és gyorsan képes elterjedni. Így mindenképpen szükséges - a nagy variabilitásra való tekintettel - a *Monilinia* izolátumok dinamikájának nyomon követése.

A vizsgálati eredményeim alapján megállapítottam, hogy a magyarországi *M. fructigena* fajon belüli diverzitás nagyobb, mint a *M. laxa* kórokozóé. A kísérletünk során alkalmazott 5 primer külön - külön is alkalmas arra, hogy értékelhető különbséget állapítsunk meg a fajok között és a fajokon belül is. Összességében az iSSR-PCR módszer alkalmasnak bizonyul a hazai *Monilinia* fajok variabilitása közötti különbség meghatározásához. Azonban ezen a genomi szinten nem tudtam sem évjárat, sem gazdanövény, sem földrajzi hely szerinti specializációt kimutatni.

## 5.2. A *Monilinia* izolátumok agresszivitásának és a meggyfajták fogékonyságának vizsgálata

A meggyfajták *Monilinia/Monilia* fertőzéssel szembeni viselkedését, esetleges rezisztenciáját, toleranciáját hazai kutatóhelyeken néhány évtizede már tanulmányozzák és behatóbban kutatják. Az első közölt adatokat elsősorban a természetes fertőzöttségre alapozták, amit az adott évjárat nagymértékben befolyásolt (Apostol, 1996). A későbbiekben Rozsnyay (2004) mesterséges virágfertőzéssel vizsgálta és az adatok alapján rangsorolta a természetett fontosabb meggyfajták *M. laxa* kórokozóval szembeni fogékonyságát, illetve toleranciáját. Ebbe a kutató munkába kapcsolódtam be 2006-ban, ahol mesterséges fertőzéseket állítottunk be *in vivo* és *in vitro* körülmények között. A vizsgált meggyfajtákon párhuzamosan bibéket és 2 éves vesszőket fertőztünk. A meggyfajták eltérő érzékenységén túl vizsgáltuk a *Monilinia* izolátumok esetleges eltérő fertőzési képességét is. Ezzel kapcsolatban kevés irodalmi adat állt rendelkezésünkre. A kórokozók ezen képessége alapján megkülönböztetünk agresszíveket vagy kevésbé agresszíveket (Virányi, 2003).

A mesterséges bibefertőzési kísérletnél az egyes fajták eltérő reakciójának megfigyelésére törekedtünk. A bibe a közvetlen fertőzéstől az általa kibocsájtott antibiotikum szerű anyag segítségével védve van (Ubrizsy, 1965), mégis az egyes fajták érzékenysége között eltérések vannak. A bibefertőzési eredményeink alapján feltételezzük, hogy az ellenállóbb bibe hamarabb elhal. Ezt tapasztaljuk különösen a "Bosnyákmeggy" fajtakörnél, melynél ismeretes, hogy a fa a fertőzött virágokat "elrúgja", ily módon megakadályozva a kórokozó továbbterjedését a szervezetben (Apostol és Véghelyi, 1992). Eredményeink alapján a Cigánymeggy 59, a Csengödi és az Érdi jubileum minden izolátummal szemben gyorsabb elhalást mutatott, mint a többi fajta. Ugyanez a három fajta kezeletlen bibéinek többsége is elszáradt laboratóriumi körülmények között a harmadik napon. A köztudottan érzékeny Érdi bőtermő viszont szinte minden monilínia izolátum esetében a legalacsonyabb bibeelhalási értéket mutatta. Ezek az eredmények megegyeznek a természetes körülmények között megfigyelt monilínia fertőzésekkel. Azonban mivel a kontroll bibék is elkezdtek elhalni a harmadik napra, úgy véljük, hogy a virágok eltávolításával olyan stressz érte a bibét, mely annak aktivitását negatívan befolyásolta. Hasonló eredményre jutott Tóth (2008) kajszii *in vitro* virágfertőzése során is. Egea és munkatársai (2002) pollentömlő növekedés vizsgálatánál szintén megállapították, hogy a virágrészek eltávolítása káros hatással van az életfolyamatra.

A kísérleteinkben használt *Monilinia* izolátumok fertőzőképessége között szignifikáns különbség volt. A legagresszívebbek a cseresznyéről (Sz10) és a manduláról (Sz46) származó izolátumok voltak, a legkevésbé agresszív a szilváról (B22) származó izolátum. Ezeket az értékeket

- figyelembe véve a virágot ért stressz hatást - a *M. laxa* populáció változékonyságának szemléltetésére elfogadhatónak tartjuk. A meggyfajták között az alkalmazott izolátumokkal szemben, azonos körülmények között, érzékenységbeli különbségek voltak.

A virágzást követő időszakban jól látható a "győztes", hiszen a sikeres termékenyülés jele a gyümölcskezdemény. A nem termékenyült bibékről ekkor még nehéz megállapítani, hogy fertőződött, megfagyott, vagy egyéb környezeti tényezők miatt feketedett el a bibe (Davarynejad et al., 2008). Nyári időszakban már jól látszik a különbség. Igaz a fertőzéstől és a fagykártól is leforrázva, megbarnulva potyognak le a virágok, de a fagykár után a vesszők szépen kiszökdülnek, a hajtások egészségesen fejlődnek tovább (Véghelyi, 2000). Termékenyülési vizsgálatoknál megfigyelték, hogy a pollentömlő-növekedésre számos tényező közvetett hatással van. Ilyen például a fák tápanyag-, fény- és vízellátottsága (Preil, 1970), és a növények növényvédőszeres kezelése. Mégis a pollentömlő-növekedésének sebességét leginkább a hőmérséklet határozza meg (Nagy, 1965; Kerékné, 1981). Az időjárás a moniliniás fertőzést is nagymértékben befolyásolja, hűvös, párás, csapadékos időben a virágzás elhúzódik, ezért a fertőzés veszélye megsokszorozódik (Schweigert, 1996). Termékenyülés szempontjából a melegebb időjárás kedvezőbb. Azt, hogy a pollentömlő mennyi idő alatt jut el a magházig, számos termékenyülési vizsgálatnál különböző technikákkal tanulmányozták (Preil, 1970; Stösser és Anvari, 1981). Vizsgálataink során először tettünk kísérletet arra, hogy a bibeszövet reakcióját tanulmányozzuk a pollennel és a konídiummal történt kezelések összefüggésében. Feltételeztük, hogy a nagyobb ellenállósággal rendelkező fajta több gombaellenes anyagot termel, ami anilinkékkal megfestve nagyobb fluoreszcenciát mutat. Kísérleteinkhez a pollentömlő növekedési vizsgálatánál a már ismertetett kétféle módszert alkalmaztuk. A Quetsch technikával készült preparátumok esetében a fluoreszcens megvilágítás során megállapítottam, hogy az egyes fajták között nagyságrendbeli különbségek vannak. A legnagyobb értéket a Cigánymeggy 59, a legkisebbet pedig a Pándy 279 bibepreparátum adta. Az inkubáció idejének növelésével a fluoreszcencia mértéke csökkent. Mindhárom vizsgált fajta esetében a pollennel történt kezelések esetében erősebb volt a fluoreszcencia értéke. Ezt tapasztaltam a gyantába ágyazott bibepreparátumok fluoreszcens megvilágítása esetében is. Ebben az esetben a Pándy 279 meggyfajta bibéiből készítettünk preparátumot. Ezzel a technikával adott fajta esetében sokkal erősebb megvilágítást kaptam, mint a Quetsch technikával, azonban itt is a pollennel történt kezelések estek összességében az erősebb tartományba. Ha ezeket a fluoreszcencia adatokat összevetjük a mesterséges bibefertőzés eredményeivel - ahol hasonló kezelések hatását vizsgáltuk- akkor azt tapasztaljuk, hogy a Cigánymeggy 59 fajta erős bibeelhalást mutat és a fluoreszcencia értéke is magasabb. Azonban az Érdi bőtermő esetében más eredményt kaptunk. A bibeelhalási vizsgálatok eredményei alapján az Érdi bőtermő a legkevésbé ellenálló, a fluoreszcencia megvilágításnál a közepes tartományba esett a többi fajtához viszonyítva. Végül azt

a következtetést tudtam levonni, hogy a konídiummal történt fertőzés mértéke és a fluoreszcencia erőssége között nem lehet párhuzamot vonni.

A meggyfajták *Monilinia* kórokozóval szembeni érzékenységének megállapítása fontos a fás részek ellenállóságát is vizsgálni. Guterath és munkatársai (2010) különböző kajsi fajtákon és hibrideken végeztek mesterséges szabadföldi ágfertőzést *Monilia laxa* kórokozóval. Az ágakon lévő szövetelhalás méretét értékelték, és megbízható eredményt kaptak az utódok rezisztencia tulajdonságaival kapcsolatban. A kísérleti munkánk során laboratóriumi és szabadföldi körülmények között vizsgáltuk a fajták fogékonyágát és a különböző gazdanövényről származó izolátumok fertőzőképességét, agresszivitását. Az eredményeket összegezve megállapítottam, hogy az április végén virágzaskor *in vitro* kísérlethez használt meggyfa vesszők fenológiai állapota nagymértékben befolyásolta az eredményeket. A nyugalmi időszakban, októberben végzett *Monilinia* fertőzés okozta szövetelhalás lényegesen kisebb mértékű volt, mint az intenzív növekedési időszakban virágzaskor. Úgy gondolom, hogy a hánccszövetben lejátszódó intenzív növekedési folyamatok mutatják a meggyfák fogékonyágát és az izolátumok agresszivitását, mivel adott idő leforgása alatt nagyobb elhalást okozott, mint a nyugalmi időszakban, azonban az egyes izolátumok agresszivitása közötti különbség kicsi. Ezt támasztják alá a varianciaanalízis értékei is, ahol jól látható, hogy míg a virágzási időszakban az egyes izolátumok agresszivitása között nincs szignifikáns különbség, addig a nyugalmi időszakban igen. Figyelemreméltó továbbá, hogy a *M. fructigena*, ami elsősorban az almatermésűek termésrothadásáért felel, milyen nagy mértékű nekrozist képes előidézni mesterséges körülmények között, azaz agresszívebbnek bizonyult az Sz65 kajsziról származó és az Sz66 meggyről származó *M. laxa* izolátumoknál. Mindkét esetben a fajták között szignifikáns különbség van, azonban tavasszal, áprilisban az intenzív növekedési időszakban nagyobb mértékű a fajták közötti eltérés. A két kísérletben hasonlóan a legfogékonyabb fajta a Kántorjánosi 3 volt, a legkevésbé fogékony pedig a Cigánymeggy 59 és a Csengődi.

A szabadföldi ágfertőzésnél megfigyelhettük, hogy mind a növény fenológiai állapota, mind a különböző évjáráthatás befolyásolta a kezelések eredményét. Walter és munkatársai (2004) őszibarack fajta rezisztencia vizsgálatnál megállapították, hogy az évjáráthatás és a fajta- évjárat interakció nagyon fontos befolyásoló tényező. 2006-ban virágzási időben történt fertőzésnél sok esetben a hajtás végig elhalt, míg 2007-ben egyik kezelésnél sem volt erre példa. Egyik évben sem találtam a fajták között szignifikáns különbséget. Összességében a legkevésbé a Csengődi fajta, a leginkább pedig az Újfehértói fürtös fertőződött. Az izolátumok fertőzőképességének mértékében, agresszivitásában azonban szignifikáns különbség volt. Már 1940-ben Mittmann-Maier a *M. laxa* és a *M. fructigena* különböző virulenciáját vizsgálta meggyen. Kísérletei során nem talált gazdanövény specializációt a *Monilinia* törzsek használata során, viszont lehetségesnek tartja a fiziológiai specializációt a *Monilinia* fajok között, vagy a törzsek között a fajokon belül. A vizsgálataink során

használt izolátumok közül összességében a manduláról származó Sz46 izolátum okozta a legnagyobb nektrózist. A meggyről származó izolátumok esetében (Sz100 és Sz101) jól megfigyelhető a különböző évjáráthatás, ugyanis 2006 csapadékos év volt akkor a fertőzés hatására nagyságrendekkel nagyobb a nektrózis kiterjedése, mint 2007-ben, amikor szárazabb és melegebb időjárás volt. Az Sz80 *M. fructigena* izolátum is minden fajtánál okozott háncselhalást, azonban az egyes fajták között nincs szignifikáns különbség. Érdekes megfigyelés azonban, hogy a *M. laxa* izolátumokkal ellentétben itt 2007 évben nagyobb a nektrózis kiterjedése, mint 2006 évben. Ha a *M. laxa* izolátumokkal hasonlítottuk össze a *M. fructigena* általi nektrózist, akkor megállapítottuk, hogy a *M. laxa* által okozott legkisebb nektrózis is nagyobb, mint a *M. fructigena* által okozott legnagyobb nektrózis. Azonban mindkét évben látványos volt a *M. fructigena* izolátum által kiváltott mézgakiválás. Berend 1968-ban már arról ír, hogy a mézga mint demarkációs termék jelenik meg, és annak mértékéből többé-kevésbé lehet következtetni a fajta moníliaival szembeni ellenállóságra. A legkevesebb mézgakiválást az Sz46 manduláról származó legagresszívebbnek bizonyult izolátum esetében tapasztaltunk. Minden meggyfajtán találtunk mézgasodott ágakat, azonban annak mértéke az egyes kezelések tekintetében változó volt.

A mesterséges vesszőfertőzési kísérletben a fertőzés mértéke és az elhalások fluoreszcencia adatait vizsgáltam. 2006 évben a nektrózis kiterjedése lényegesen nagyobb volt, mint 2007 évben. A fluoreszcencia értékek szintén nagymértékben eltérnek, de itt a 2007 évből származó preparátumok azok, amelyeknél nagyságrendekkel nagyobb értéket mértem. Szintén érdekes, hogy míg a fajtákon jelentkező szövetelhalás mértékének eltérései a 2007 évben minimálisak (1,0 - 7,5), addig ezen fertőzések fluoreszcencia értékei széles skálán mozognak (114 - 282). Az Sz80 izolátum által előidézett nektrózis a két évben és a fajták közötti is kicsi, a fluoreszcencia értéke pedig nagy mind a fajták, mind az évjáratok között. Ez a *M. fructigena* izolátum által okozott háncselhalás mértéke mindkét évben kisebb volt, mint az Sz100 és Sz101 *M. laxa* izolátumok által okozott elhalás. A fluoreszcens megvilágításnál azonban a *M. fructigena* értékei voltak a nagyobb tartományban. A kísérlet során a legnagyobb elhalást a Kántorjánosi 3 fajtánál mértünk az Sz46 manduláról származó izolátummal történő fertőzés után. Ezt tapasztaltam a fluoreszcencia megvilágításnál is, ahol ez a kezelés értéke volt a legnagyobb tartományban. Hasonlóan alakult a fertőzés mértéke az Sz80 *M. fructigena* izolátummal történő fertőzéssel 2007 évben az Újfehértói fürtösnél, ahol az elhalás mértéke és a fluoreszcencia mértéke is a legnagyobb volt. Ez a tendencia azonban nem vezethető le minden kezelésnél. 2006 évben a Cigánymeggy 59 fajtán a meggyről származó Sz100 izolátum okozta a legnagyobb nektrózist, addig ez az érték adta a legkisebb mértékű fluoreszcenciát.

2006 évben a kísérletet tavasszal állítottuk be a háncs differenciálódása elején, míg 2007-ben júniusban, azaz differenciálódás végén. Véleményem szerint a tavasszal végzett fertőzésnél a fa az asszimilátumok gyors szállításával, az aktív cukor transzporttal hozzájárult a gomba



táplálkozásához és energiatermeléséhez szükséges szerves vegyületek "tálalásához" (Vetter, 2003; Pethő, 1993). A zárwatermők leggyakoribb háncseleme a rostacsövek, melyeknek a harántfala lyukacsos. Hozzájuk kapcsolódnak a kísérősejtek, melyek a tápanyagokat raktározzák (Alexay, 1997). A kambium külső részén a háncsban ezek az elemek intenzíven szállítják az asszimilátumokat a differenciálódásuk végéig, azaz kb. júniusig. Így júniusban, a háncs differenciálódás végén történt kezelésnél, ezért mérhettem kisebb nekrozist. A tavasszal végzett fertőzésnél a fluoreszcencia értéke azért nagyságrendekkel kevesebb, mint a júniusban végzett fertőzésnél, mert nyárra a fa háncsszövetében a kallóz nevű tömítő anyag nagyobb mennyiségben van jelen a fában, egyrészt a differenciálódás miatt, másrészt a növényi sejt hiperszenzitív reakciója miatt.

A mézgásodás és a fluoreszcencia értékei között nem tudtam párhuzamot vonni. Míg az Sz46 manduláról származó izolátummal történt kezelésnél tapasztaltam a legkisebb mézga képződést és a legnagyobb háncselhalást, addig ezt a kiemelkedő értéket a fluoreszcencia adatok nem támasztották alá.

A vizsgált meggyfajták érzékenységet az eredményeink alapján a **9. táblázatban** összegezzük. A besorolás során a 'mérsékelten fogékony', 'kismértékben fogékony' és a 'nagymértékben fogékony' kifejezéseket használtuk.

**9. táblázat:** A vizsgált meggyfajták besorolása érzékenységük alapján korábbi irodalmi adatok és a saját vizsgálati eredmények összehasonlításában

	<b>Irodalmi adatok</b> (Apostol és Rozsnyay, 2003., Rozsnyay, 2004; Brózik és Kállay, 2000)	<b>Vizsgálati eredményeink</b>
<b>Érdi bőtermő</b>	fogékony	mérsékelten fogékony
<b>Újfehértói fürtös</b>	mérsékelten fogékony, fogékony	mérsékelten fogékony
<b>Kántorjánosi 3</b>	toleráns, fogékony	nagymértékben fogékony
<b>Cigánymeggy 59</b>	mérsékelten fogékony	kismértékben fogékony
<b>Érdi jubileum</b>	toleráns	mérsékelten fogékony
<b>Pándy 279</b>	fogékony	mérsékelten fogékony
<b>Csengődi</b>	rezisztens	kismértékben fogékony

A vizsgálatok különböző eredményeit valószínűleg a természetes és mesterséges körülmények, hőmérséklet, stressz hatások illetve a fertőzés helye is befolyásolták. Ezen környezeti tényezőket mind a fajtaválasztáskor, mind a védekezéskor figyelembe kell venni. A hagyományos rezisztencianemesítésen túl a molekuláris vizsgálatokra is nagy hangsúlyt kell fektetni a közeljövőben.

### 5.3. A *Clonostachys rosea* mikoparazita alkalmazása

A *Botrytis cinerea* kórokozó ellen számos gazdanövényen és növényi részen sikeresen alkalmazott *Clonostachys rosea* antagonistát tanulmányoztuk *M. laxa* és *M. fructigena* kórokozókkal szemben. A *C. rosea* antagonistát többen is alkalmazták ültetvényekben különböző kórokozókkal szemben. Sonsteby (2002) szamóca ültetvényben alkalmazott kezeléseket virágzás előtt, virágzásban és betakarítást követően. Megállapította, hogy a kezelések hatására a rothadt bogyók száma szignifikánsan csökkent. Brazíliában szántóföldi szamócaültetvényben védekeztek *B. cinerea* kórokozó ellen, mely során a szürkerothadás mértéke csökkent és a termés növekedett (Cota et al., 2008a). *Monilinia* esetében csak néhány adat található. Wittig és munkatársai (1997) kísérleteikben arról számolnak be, hogy a meggy virágzásának idején alkalmazták az antagonistát köd borításos technikával *M. fructicola* ellen. Eredményeik alapján az antagonista a virágfertőzést kis mértékben tudta visszaszorítani. Kajszi ültetvényben alkalmazta Sesan és Oprea (1999) *Monilinia laxa* ellen, ők azonban egyáltalán nem tudtak antagonista hatást kimutatni.

Irodalmi adatot nem találtam az antagonista és a *Monilinia* fajok interakciójának mikroszkópos vizsgálatával kapcsolatban. A *C. rosea* parazitizmusát mikroszkóppal többen is nyomon követték más kórokozókkal (Yu és Sutton, 1997; Li et al. 2002). Eredményeim azt támasztják alá, hogy a *C. rosea* parazita képes körülölelni a *Monilinia* fajok hifáját és behatolni abba. Irodalmi hivatkozást azonban nem találtam arra vonatkozóan, hogy az antagonista képes-e sporulálni a parazitált micéliumban.

Pachenari és Dix (1980) úgy vélik, hogy a *C. rosea* mikoparazita hifa kontaktusa behatolás nélküli, az antagonista interakciót a sejtfalat romboló enzimek termelésével viszi végbe. Szintén antagonista hatását vizsgálták a *Sclerotinia sclerotiorum* talajban lévő szkleróciumain Rodríguez és munkatársai (2011) is. Megállapították, hogy a mikoparazita tevékenységen túl, másodlagos anyagcseretermékekkel, a peptaibolok termelésével is képes gátlást kifejteni. Vizsgálataim során - az általunk alkalmazott eljárással - nem tudtam antibiózist kimutatni.

Munkánk során *in vitro* körülmények között vizsgáltuk a bibefertőzés elleni antagonista hatást. A csak kórokozóval kezelt bibék már a vizsgált időszak elején bizonyos fokú elhalást mutattak, addig az antagonistával kezelték egészséges habitusúak voltak. Az antagonistaal történő kezelést követően 24 órával később *Monilinia* kórokozókkal történő fertőzésnél minden esetben, minden fajtánál késleltette a bibeelhalást a csak kórokozóval kezelthez képest. Ennek ellenére a vizsgálat utolsó napjára (amikor már a kontroll bibék is elkezdtek beszáradni) az antagonistával történő kezelések is hasonló mértékű elhalást mutattak, mint a csak kórokozóval kezelték. Hasonlóan a meggyfajta rezisztencia vizsgálatoknál végzett bibefertőzési eredményekhez, úgy vélem, hogy a virágok eltávolításával olyan stressz érte a bibét, mely annak aktivitását negatívan befolyásolta. Érdemes lenne olyan szabadföldi vizsgálatokat végezni, melyekben különböző

ellenállósággal rendelkező hazai meggyfajtákon lehetne megfigyelni az antagonista hatását önmagában vagy integrált termesztési eljárás keretében.

Gyümölcsfertőzési vizsgálatunkat 'Golden' almafajtán végeztük és az általunk használt *C. rosea* antagonista semmilyen nekrotikus tünetet nem idézett elő a gyümölcsön. Számos növényfajon (málna, szamóca, gerbera, muskátli, ciklámen, paradicsom, uborka, rózsa és egyéb dísznövényeken) és növényi részeken (gyökéren, hajtáson, levélen, termésen) is teljesen tünetmentes (Gindrat et al., 1997, Sutton et al., 1997; Yu és Sutton, 1997; Sonsteby, 2002; Morandi et al., 2003). Azonban találtam jelentést arról is, hogy a *C. rosea* patogén az alma gyümölcsön, a burgonya gumón, a fenyő rügyön, és a babon (Sutton et al., 1997). Vizsgálataink során az alma gyümölcs ideális modellnek bizonyult a két gomba egymásra gyakorolt hatásának vizsgálatában.

Míg Zimowska (2004) *Hypericum perforatum* L. gyógynövényt fertőző *Seimatosporium hypericinum* ellen csak a 34 nap után tudott biotikus hatást kimutatni, addig a mi vizsgálatunkban 8 nap alatt látványos eredményt kaptunk az egyes kezelések tekintetében. Ha a sebzésbe a *C. rosea* micéliumát 24 órával korábban helyeztük, mint a *Monilinia* izolátumot, akkor a kialakult nekrozis minden esetben kisebb volt, mint a csak *Monilinia* kórokozókval kezelt. Az antagonista és a kórokozó azonos időben történő alkalmazása során az alma gyümölcscről származó *M. fructigena* izolátum közel azonos nagyságú nekrotikus tünetet produkált, mint a csak kórokozóval fertőzött. A mandula ágról származó izolátum fele olyan mértékű nekrozist tudott kialakítani, mint a többi izolátum. Ennek ellenére az antagonistával ugyanabban az időben és a 24 órával korábban történő kezelésnél arányaiban kisebb mértékű a nekrozis csökkenése, mint a többi izolátumnál. Ennek feltételezhetően az lehet a magyarázata, hogy az izolátum csonthéjas gazdanövényről származik. A vizsgálatunkban használt összes izolátum 2004-es évből származik. Ebben az évben a barnarothadásnak nagyon kedvező klimatikus tényezők voltak, s addig nem látott fertőzést idézett elő mandulán. Így feltételezhető, hogy ez az izolátum egy agresszívebb populációból származik. Az antagonista hatása a 48 órás kezelésnél látható a legjobban, hiszen nekrozis egyik kezelésben sem látható. Hasonlóan erősen elnyomta az antagonista a *Botrytis cinerea* kórokozót Yu és Sutton (1997) vizsgálatában málna levélen, hajtáson és porzószálon a kórokozóval azonos időben vagy 32 órával korábbi kezelésnél. Az eredmények alapján megállapítottam, hogy a 48 órával korábban antagonistával kezelt gyümölcsökön mind a *M. laxa*, mind a *M. fructigena* izolátumok esetében teljes gátló hatást tudott kifejteni, így visszazsorítva a gyümölcsmúmiák kialakulását és a kórokozó inokulum kibocsátását.

További tesztelést lehetne végezni a kórokozó más gazdanövényén például őszibarackon, melyen a vizsgált kórokozók jelentős gazdasági kárt okoznak. Vizsgálatainkban micéliumot használtunk, hiszen a tárolás során a micéliummal való terjedésnek nagyobb a szerepe, mint a konídiummal történő terjedésnek, és ehhez a modellezéshez ez a fertőzési mód alkalmasnak

bizonyult. Azonban további kísérleteket is érdemes lenne elvégezni a kórokozó konídiumaival, amely közelebb hozná a kísérleti és a természeti körülményeket, valamint a jövőbeli felhasználási módszert is jobban tükrözné.

#### **5.4. A *Monilinia* izolátumok fungicid érzékenysége**

A fungicides védekezés a *Monilinia* elleni integrált növényvédelem kulcstényezője, az egyre gyakoribbá váló védekezés azonban növeli a fungicidekkel szembeni érzékenység csökkenésének a kockázatát (Enisz, 1989). Bár a hazai *M. laxa* és *M. fructigena* esetleges fungicid rezisztenciájáról, az egyes izolátumok csökkent érzékenységről ez idáig nem jelentek meg irodalmi adatok, a *Sclerotiniaceae* családba tartozó más növénykórokozó fajok körében ismert és számos gyakorlati problémát okozó jelenség a fungicid rezisztencia. A *Botrytis cinerea* kórokozó egyes fungicidekkel szemben ellenálló törzseit már az 1960-as évektől leírták, és e kórokozó a fungicid rezisztencia vizsgálatoknak szinte „modellszervezetévé” vált (Beever et al., 1989; Johnson et al., 1994; Kaptás, 1994; Yourman és Jeffers, 1999). A *Monilinia fructicola* esetében fungicidekkel szembeni csökkent érzékenységet, ellenállóságot többen is jelentettek már (Ritchie, 1983; Ma et al., 2003b; Yoshimura et al., 2004; Schnabel et al., 2004, Cox et al., 2007; Chen et al., 2012; Lesniak et al., 2012; Liberator et al., 2012). A rezisztencia kialakulásának veszélye alapján a hatóanyagcsoportok és a kórokozók is kategorizálhatóak. Megkülönböztethetünk nagy, közepes és kis rezisztenciaveszéllyel rendelkező hatóanyagcsoportokat és kórokozókat (Taksonyi, 2012).

Vizsgálataink során nyolc gazdanövényről származó 42 *Monilinia* izolátumot teszteltünk tíz fungiciddel szemben. A vizsgálatba vont hatóanyagok közül napjainkra már többet visszavontak, de az izolálásakor és a vizsgálatok elvégzésekor még engedélyezett készítmények voltak. A vizsgálat beállításakor törekedtünk arra, hogy különböző hatásmechanizmusú készítményeket teszteljünk, így alkalmaztunk kontakt és szisztémikus szereket is.

Hazánkban fungicidek hatékonyságának csökkenését első alkalommal a *Venturia inaequalis* kórokozóval szemben alkalmazott Fundazol készítmény kapcsán figyelték meg az 1970-es évek végén (Tóth és Vajna, 1980). A benomil rezisztencia biokémiai mechanizmusáról ismert, hogy a rezisztens törzsek az érzékenyeketől eltérő tubulint tartalmaznak, és az ilyen, módosult tubulint tartalmazó sejtekben csökken a benomil megkötődése, ezért a szer nem képes fungicid hatást kifejteni (Hornok, 1987). A *Monilinia fructicola* és a *M. laxa* kórokozók alacsony és magas szintű benomil rezisztenciájáról többen beszámoltak már (Ma et al., 2003b; Ma et al., 2005). A magyarországi gyümölcsfákról gyűjtött *Monilinia* izolátumok vizsgálati eredményei alapján a teljes gátláshoz szükséges átlagos benomil koncentráció 21,29 ppm, míg a szórás az egyes izolátumok tekintetében kicsi (2,07 ppm).

A dikarboximid fungicidok (iprodion, procimidon és vinklozolin) csoportja azért érdekes, mert több esetben is megfigyeltek már keresztrezisztenciát, ami azt jelenti, hogy a rokon szerkezetű fungicidok egyikével szemben kialakult rezisztencia a többi ilyen típusú vegyületet is képes tolerálni (Ritchie, 1983; Hornok, 1987). Erről számol be Ritchie (1983) a *Monilinia fructicola* kórokozó esetében, azonban a keresztrezisztenciát nem találta egyformának, ami a poligénes szabályozás miatt csak egy-egy gén mutációját eredményezte. Vizsgálatai alapján a dikarboximidek közül a procimidon gátolta a növekedést legkevésbé, ami megegyezik a mi eredményeinkkel. A legerősebb gátló hatással a vinklozolin rendelkezett. A dikarboximidek rezisztencia mechanizmusát számos növénykórokozónál vizsgálták már (Faretra és Pollastro, 1993; Orth et al., 1994; Ochiai et al., 2002; Oshima et al., 2002).

A fenarimollal szembeni rezisztencia mechanizmusát De Waard és Van Nistelrooy (1981) írta le. A rezisztens gomba sejtjeiben a fenarimol akkumulációja sokkal kisebb, mint az érzékeny törzsében. A rezisztens törzsben a leadás kezdettől fogva intenzíven működik, vagyis a hatóanyag akkumulációja a sejteken belül nem jön létre a hatás kifejtéséhez szükséges mértékben. A kísérletek során azt tapasztaltam, hogy a fenarimol hatóanyagból az izolátumok teljes gátlásához hasonló koncentráció szükséges, mint az iprodionból.

A triadimefon hatóanyagú Bayleton 25 WP engedélyét már visszavonták, azonban különböző ültetvényekben és kiskertekben előszeretettel használták évtizedeken át. A triadimefon hatóanyag csökkent érzékenységről beszámoltak már *Sphaerotheca fuliginea*, *Blumeria graminis f.sp. tritici* és *Erysiphe necator* kórokozók esetében is (Al-Mughraby és Gray, 1995; Gubler et al., 1996; McGrath és Shishkoff, 2001). A hazai *Monilinia* populáció teljes gátláshoz szükséges triadimefon hatóanyag koncentráció mennyiség átlaga hasonló a procimidon hatóanyaghoz, azonban az egyes izolátumok közötti eltérés csekély.

A Szerbiában gyűjtött *Venturia inaequalis* izolátumok kaptán rezisztenciáját vizsgálták Stević és munkatársai (2010), az izolátumok hasonló érzékenységről számoltak be. Vizsgálati eredményeink ezzel ellentétesek, mivel a magyarországi izolátumok teljes gátlásához szükséges kaptán koncentráció értékének szórása magas.

A pirimetanil és a boscalid hatóanyagokkal szemben - a speciális hatáshelye miatt - a kórokozó könnyebben válik rezisztensé, így alkalmazása nagy körültekintést igényel. Stević és Vukša (2006) szerbiai izolátumokat vizsgált, ahol a pirimetanil tesztelése során, a mi eredményeinkhez hasonlóan, magas koncentráció értékeket adtak meg. A réz hatóanyag ellen rezisztencia nem alakul ki, nagyon sokrétű, de túlzott alkalmazása nem ajánlott.

Ugyanazzal a fungiciddel szemben többféle mechanizmussal is kialakulhat rezisztencia. Azonban bizonyítást nyert az is, hogy az izolátumok genetikai anyaga nagy változékonyságot mutat, s ez állhat annak a háttérében, hogy a fungicid rezisztencia vizsgálatokor nagyfokú szórás

figyelhető meg (Beever et al., 1989, Chardonnet et al., 2000). Egyértelmű, hogy sokkal költségesebb a már kialakult rezisztenciával szemben védekezni, mint annak kialakulását megakadályozni vagy legalább késleltetni. Kevert populációval szemben eredményes védelem csak kettő vagy esetenként több komponens egyenként is megfelelő aktivitású koncentrációjának keverékével nyújtható. Ez pedig a védekezés gazdaságosságát teszi kérdésessé.

A kísérletek során azt tapasztaltam, hogy a hazai monilínia populáció variábilis, azaz kialakultak már olyan populációk, amelyek kevésbé érzékenyek a fungicidekre. A vizsgálatok során azonban nem fedeztem fel sem gazdanövény, sem származási hely szerinti specifikációt. Az utóbbi évtizedek gyakorlata, mely során egy erőteljesebb fungicid nyomás volt a kórokozón, nagy valószínűséggel azt eredményezhette, hogy a kórokozó genetikailag megváltozott, s így csökkent fungicid érzékenység alakult ki. Ez lehet a kórokozó gyakoribb fellépésének – megnőtt agresszivitásának – is az egyik magyarázata. Ezen eredményeket összevettem a genetikai vizsgálat eredményeivel, de az általunk vizsgált genomi szinten nem találtam elkülönülést, azaz szelekciós nyomást a fungicid érzékenységet illetően.

A *M. laxa* és *M. fructigena* hazai populációjában tapasztalt különbségek (jelentős eltérések) miatt – noha fungicid rezisztenciáról nem lehet beszélni – a védekezési irányoknak nagyon megalapozottnak kell lenniük. A nemzetközi tapasztalatok figyelembevételével mellett szükség van a rendszeres hazai felmérésekre is (Josepovits, 1991). A molekuláris vizsgálatok a fungicid rezisztencia mechanizmusának megértésében segíthetnek, amellyel egy hatásos és gyors módszer lehet kifejleszteni az ellenálló genotípusok kimutatására (Ma és Michailides, 2005). Ilyen allél specifikus PCR próbát fejlesztettek ki Ma és munkatársai (2003b; 2005) a benzimidazol rezisztens *M. fructicola* és *M. laxa* gyors detektálásához. A továbbiakban érdemes lenne ezekkel a primerekkel vizsgálni a hazai izolátumokat is, mert így egy egyszeri PCR eljárással lehetne kimutatni a rezisztencia jelenlétét.

## 6. ÖSSZEFOGLALÁS

Az utóbbi évtizedekben megfigyelhető, hogy a csonthéjas ültetvényeinkben a *Monilinia* fajok egyre agresszívebben, egyre nagyobb fertőzést okozva lépnek fel. Azonban nemcsak az évről – évre súlyosabb virágelhalás, hajtásszáradás hívja fel a figyelmet országszerte erre a kórokozóra, hanem a szélesedő gazdanövénykör is. Az általunk vizsgált 69 *Monilinia* izolátumot Magyarország különböző termőhelyeiről, kilenc különböző gazdanövényről és különböző növényi részeiről gyűjtöttük 2002 és 2006 között. Annak eldöntéséhez, hogy az izolátum melyik fajba tartozik hagyományos mikológiai és molekuláris vizsgálatokat is végeztünk. Megállapítottuk, hogy az általunk gyűjtött izolátumok közül 47 *M. laxa*, 21 *M. fructigena*, 1 *M. fructicola*.

A kórokozók által előidézett fertőzésbeli különbségek egyik oka lehet a populációkban bekövetkező változás, melyet hazánkban először tanulmányoztunk iSSR primerek segítségével. Az eredmények alapján készített törzsfán látható, hogy a *M. laxa* és a *M. fructigena* fajok elkülönültek egymástól. A vizsgálatok eredményei alapján megállapítottam, hogy a magyarországi *M. fructigena* fajon belüli diverzitás nagyobb, mint a *M. laxa* kórokozóé. Az egyes izolátumok között pedig magas a genetikai variabilitás. Az eredmények alapján ezen a genomi szinten nem tudtam specializációt elkülöníteni sem gazdanövény, sem évjárat, sem földrajzi származás szempontjából.

A XX. század közepén indult hazánkban a módszeres meggy-nemesítés. Mára a világ meggytermesztő államai közül Magyarországon található a legszélesebb fajtaválaszték. Korábban csak az árú értéket vették figyelembe a nemesítés során, majd Apostol János munkája során elkezdődött a betegséggel szembeni nagyfokú ellenállóságot mutató fajták nemesítése is (Apostol és Véghelyi, 1992; Apostol, 1996; Rozsnyay és Vajna, 2001; Apostol és Rozsnyay, 2003). A meggyfajták a monília fertőzéssel szemben általában fogékonyak, de jelentős különbségek vannak annak mértékét illetően. Vizsgálataink során a köztermesztésben alkalmazott hét meggyfajta (Érdi bőtermő, Csengődi, Cigánymeggy 59, Érdi jubileum, Kántorjánosi 3, Pándy 279, Újfehértói fürtös) fogékonyágát vizsgáltuk, és a különböző növényekről izolált *Monilinia* izolátumok patogenitását és agresszivitását hasonlítottuk össze. A mesterséges bibefertőzési kísérletnél a használt *Monilinia* izolátumok fertőzőképessége között szignifikáns különbség volt. A meggyfajták között (az alkalmazott izolátumokkal szemben) azonos körülmények között érzékenységbeli különbségeket voltak. Először vizsgáltam a bibeszövet reakcióját a pollennel és a konídiummal történt kezelések hatására. Megállapítottam, hogy az inkubáció idejének növelésével a fluoreszcencia értéke csökkent. Mindhárom vizsgált meggyfajta (Érdi bőtermő, Cigánymeggy 59 és Pándy 279) esetében a pollennel történt kezelések esetében magasabb volt a fluoreszcencia értéke. Ezt tapasztaltam a Quetsch technikával és a gyantába ágyazott bibepreparátumok fluoreszcens megvilágítása mellett is. Végül arra a következtetésre jutottam, hogy a konídiummal történt fertőzés során keletkezett

bibeelhalás megfelelően jelzi a fajta védekezési képességét. A fajták ezen eltérése a fluoreszcencia adatokban is jól látható.

A meggyfajták *Monilinia* kórokozóval szembeni érzékenységének megállapítása során, fontos a fás részek ellenállóságát is vizsgálni. Az *in vitro* és az *in vivo* ágfertőzésnél megfigyeltem, hogy mind a növény fenológiai állapota, mind a különböző évjáráthatás befolyásolta a kezelések eredményét. Megállapítottam, hogy a *M. laxa* által okozott legkisebb nektrózis is nagyobb, mint a *M. fructigena* által okozott legnagyobb nektrózis. Azonban mindkét évben látványos volt a *M. fructigena* izolátum általa kiváltott mézgakiválás. A háncsszövetben lejátszódó folyamatokat is nyomon követtem fluoreszcencia vizsgálattal. Megállapítottam, hogy a tavasszal végzett fertőzésnél a fluoreszcencia értéke alacsony volt, míg a júniusban végzett fertőzésnél, a fluoreszcencia értéke nagyobb, mert nyárra a fa háncsszövetében a kallóz nagyobb mennyiségben volt jelen. Eredményeim arra utalnak, hogy a fajta háncsszövetében történő fertőzés mértéke inkább függ a fenológiai állapottól, mint az évjárattól. Az izolátumok háncsszövetben megfigyelhető agresszivitásban az évjáráthatásnak nagyobb szerepe volt, mint a fenológiai állapotnak.

Elsőként tártam fel fénymikroszkóppal a *C. rosea* mikoparazita és a *M. laxa* valamint a *M. fructigena* kórokozók közötti interakciót. Megállapítottam, hogy az antagonista körülöleli a kórokozó hifáját, behatol abba, és ott képes sporulálni is. Vizsgálataim során 'Golden' almafajtát használtam, mely ideális modell rendszernek bizonyult a két gomba egymásra gyakorolt hatásának vizsgálatához. Eredményeim alapján megállapítottam, hogy a 48 órával korábban alkalmazott antagonista, mind a *M. laxa*, mind a *M. fructigena* izolátumok esetében teljes gátló hatást tudott kifejteni a gyümölcsön, így visszaszorítva a gyümölcsmúmiák kialakulását és ezáltal a kórokozó inokulum kibocsátását.

A XX. század gyors ipari fejlődésének köszönhetően számtalan peszticid jelent meg a piacon. Az egyre gyakrabban alkalmazott fungicides kezelések fokozhatják a fungicidekkel szemben kevésbé érzékeny, ellenálló monilínia izolátumok kialakulásának a veszélyét. A *Sclerotiniaceae* családba tartozó más növénykórokozó fajok körében ismert és számos gyakorlati problémát okozó jelenség a fungicid rezisztencia. Magyarországon először vizsgáltam a hazai *Monilinia* izolátumok fungicid érzékenységét, melyhez nyolc gazdanövényről származó 42 izolátumot vizsgáltam tíz fungiciddel szemben. A hatóanyagok teljes gátláskifejtéséhez szükséges legkisebb koncentráció értékét (MIC) határoztam meg, majd ez alapján besoroltam az izolátumokat relatív érzékenységük alapján. A hazai *Monilinia* izolátumok teljes gátlásához szükséges értékek között az egyes vizsgált hatóanyag vonatkozásában nagy szórás volt tapasztalható. Ezen különbségek megfigyelhetőek nemcsak a *M. laxa* és a *M. fructigena* fajon belül, de a fajok között is. Eredményeimben fellelhető szélsőségek arra utalnak, hogy a hazai monilínia populáció variábilis, azaz kialakultak olyan populációk amelyek érzékenyek, és kialakultak olyan populációk amelyek



kevésbé érzékenyek a fungicidekre. A vizsgálataim során azonban nem fedeztem fel sem gazdanövény, sem származási hely specifikációt. Az utóbbi évtizedek gyakorlata, mely során egy erőteljesebb fungicid nyomás volt a kórokozón, azt eredményezhette, hogy a kórokozó genetikailag megváltozott, s így csökkent fungicid érzékenység alakult ki, és ez lehet a kórokozó gyakoribb fellépésének, megnőtt agresszivitásának is az egyik magyarázata. Ezen eredményeket összevettem a genetikai vizsgálat eredményeivel, de az általam vizsgált genomi szinten nem találtam elkülönülést, azaz szelektációs nyomást a fungicid érzékenységet illetően.



## 7. SUMMARY

In past decades, more and more serious *Monilinia* infections were observed in Hungarian stone fruit plantations. Besides the increment in flower infection and shoot blight, the widening of the host range of the pathogens was also observed. In our work, we collected *Monilinia* isolates between 2002 and 2006 from all over the country, from nine different host plants. For the species-level taxonomical identification, we used both traditional morphological and molecular methods. Out of the 69 isolates, 47 belonged to the species *M. laxa*, 21 to *M. fructigena* and one to *M. fructicola*.

One of the supposed reasons for the altered epidemiology of the *Monilinia* is a change in the population of the pathogen. We were the first to investigate this possible change using iSSR primers. Most of the applied primers (5 out of 7) proved to be useful for the differentiation of the strains. On the dendogram of *Monilinia* strains based on these PCR products, *M. fructigena*, *M. laxa* and *M. fructicola* species clearly separated. It was found that the diversity of *M. fructigena* strains is significantly higher than that of the *M. laxa* strains. Although we found high genetic variability in both species, in this level there wasn't any correlation with either the geographical location or with the original host plant.

Systematic breeding of sour cherry started in the mid-twentieth century in Hungary. Today, we have the widest assortment of sour cherry cultivars all over the world. In the beginning, the only aspect of the breeding was the quality of the fruits, but later, the resistance to important pathogens became more and more important (Apostol and Véghelyi, 1992; Apostol, 1996; Rozsnyay and Vajna, 2001; Apostol and Rozsnyay, 2003)

Sour cherry cultivars are generally susceptible to *Monilinia* infection, but there are significant differences in susceptibility. In our experiments we tested seven cultivars ((Érdi bőtermő, Csengődi, Cigánymeggy 59, Érdi jubileum, Kántorjánosi 3, Pándy 279, Újfehértói fürtös) against *Monilinia* strains isolated from various host plants.

When we infected pistils of detached flowers in laboratory, it was found that there was significant difference both in the aggressivity of *Monilinia* strains and in the susceptibility of the cultivars. Our work was the first which studied the reaction of pistil to infection on tissue level. We compared the penetration process of pollen and the pathogen spores with two different techniques. It was found that the fluorescence of infected tissues decreased with time. Pistil tissues of all three investigated cultivars (Érdi bőtermő, Cigánymeggy 59 and Pándy 279) showed more intensive fluorescence after pollination than after infection with *Monilinia*. However, we concluded that there is no correlation between the susceptibility of the cultivar and the fluorescence of the pistil tissues.

The reaction of the cambium of the woody parts to the pathogen is also a major factor of the susceptibility or resistance of a given cultivar. We infected twigs of sour cherry cultivars both in laboratory and in the field. We found that both the phenology and the weather conditions of the given year influenced the infection process. Even the weakest infection caused by *M. laxa* resulted much larger necrosis than that found after infection with *M. fructigena*. Infection with the latter resulted more intense secretion of gum, what is an indication of the defense reaction of the plant. Reaction of the cambium to the infection was studied on tissue level also. Fluorescence was lower when twigs were infected in spring and stronger following infection in June. Our results indicate that the infection process in the cambium depends more on the phenology than on the environmental conditions. On the other hand, aggressivity of the different isolates was more dependent on the weather conditions than on host cultivar.

Biological control of *Monilinia* infection of stone fruits would be desirable not only in ecological farming. If we could prevent either the twig infection or the fruit infection and thus the formation of fruit mummies, the overwintering of the pathogen could be reduced significantly. For this purpose, a strain of the well-known antagonistic fungus *Clonostachys rosea* was tested for preventing either flower or fruit infections. In *in vitro* experiment, we found that *C. rosea* parasited on the hyphae of the *Monilinia* strains and eventually penetrated them. The antagonist even was able to sporulate on *Monilinia*.

For the examination of fruit infection, equal size apples of cv. Golden were used which proved to be optimal for studying the interaction of the antagonist and *Monilinia* strains. We found that the treatment of fruits with the antagonist 48 hours prior to *Monilinia* infection completely prohibited the fruit infection. It proves that the antagonist could play a significant role in the prevention of fruit mummy formation.

There are a wide range of fungicides available for the control of *Monilinia* infection. Although no fungicide resistance is known in the genus, the closely related *Botrytis cinerea* species can exhibit resistance to various chemicals, imposing a major problem in chemical control. For this reason we studied the fungicide sensitivity of 42 *Monilia* strains isolated from 8 different hosts. We determined the minimum inhibitory concentration (MIC) value of 10 fungicides for each strain. Isolates could be grouped based on their average sensitivity. The MIC values of different fungicides were highly variable. Also, the sensitivity of different strains within species was highly variable. However, there was no correlation with either the host plant or with the place of origin. Also, there was no correlation of fungicide resistance and PCR based grouping of the strains.

These results indicates that there are *Monilinia* populations in Hungary with very different fungicide sensitivities and this combined with more and more frequent fungicide applications can promote the development of resistans strains.

## 8. MELLÉKLETEK

### M1 - Irodalomjegyzék

1. AGRIOS G.N.(1997): Plant Pathology (4th Edition). London. Academic Press.
2. ALEXAY Z. (1997): A növényi szövetek. In. ALEXAY Z.: Molekuláris biológia és sejtbiológia. Széchenyi István Főiskola Jegyzet.
3. AL-MUGHRABI K.I., GRAY A.B. (1995): Competition between triadimefon-sensitive and triadimefon-resistant isolates of *Erysiphe graminis f. sp. tritici*. Plant Disease, 85(2): 147-154.
4. ANDREWS J.M. (2001): Determination of minimum inhibitory concentrations. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 48(Suppl 1.): 5 – 16.
5. ANON. (2000): IFOAM basic standards for organic production and processing. New York, USA: Tholey – Theley Press. pp. 42.
6. APOSTOL J. (1990): Biomeggy. Kertészet és Szőlészet, 39(17): 3.
7. APOSTOL J. (1996): A cseresznye és a meggyfajták blumeriellás levélfoltosodását és moniliniás ágszáradás iránti fogékonysága, szerepük az integrált termesztésben. Agrofórum VII. (1): 44-45.
8. APOSTOL J., BALLA I., VÉGHÉLYI K. (1998): Meggy rezisztencia nemesítés in.: Integrált termesztés a kertészetben (19.) Budapest Fővárosi Növényegészségügyi és Talajvédelmi Állomás. pp. 41-45.
9. APOSTOL J., VÉGHÉLYI K. (1992): Meggymonília. Ígéretesen ellenálló fajták. Kertészet és Szőlészet, 41(20): 8-9.
10. APOSTOL J. (2003): Cseresznye- és meggy nemesítés, a fontosabb fajták leírása. In.: HROTKÓ KÁROLY (Szerk.): Cseresznye és meggy. Mezőgazda kiadó, Budapest, pp. 74 - 86.
11. APOSTOL J., ROZSNYAY ZS. (2003): Prognosis of the Hungarian breeding for disease resistant cherries. Eucarpia Symposium "Fruit Breeding and Genetics"angers-France 1 -5 September 2003.
12. BÁNHEGYI J., TÓTH S., UBRIZSY G., VÖRÖS J. (1985): Magyarország mikroszkópikus gombáinak határozókönyve 2. kötet, Akadémiai Kiadó, Budapest pp. 544 – 550.
13. BARGIONI G. (1982): Il ciliegio dolce Edagricole Bologna. (Cit. Soltész, 1997).
14. BARNETT H.L., LILLY V.G. (1962): A destructive mycoparasite, *Gliocladium roseum*. Mycologia, 54: 72-77.

15. BAROFFIO C.A., SIEGFRIED W., HILBER V.W. (2003): Long term monitoring for resistance of *Botryotinia fuckeliana* to anilinopyrimidine, phenylpyrrole and hydroxyanilide fungicides in Switzerland. *Plant Disease*, 87: 662-666.
16. BASF (2012): Technológiai kézikönyv - Szőlő, gyümölcs- és zöldségkultúrák. Szerk.: BASF Hungária Kft. Agrodivízió.
17. BATRA L.R. (1991): World species of *Monilinia* (fungi): Their ecology, biosystematics and control. *Mycologia Mem.* 16: 1-246.
18. BEEVER R., LARACY E., PAK. H. (1989): Strains of *B. cinerea* resistant to dicarboximide and benzimidazole fungicides in New Zealand vineyards. *Plant Pathology*, 38(3): 427 – 437.
19. BELLINI E., WATKINS R., POMARICI E. (1984): Descriptor list for peach (*Prunus persica*). AGPG-IBPGR Rome-Brussels, pp. 1–34. (Cit. Soltész, 1997).
20. BÉKEFI ZS. (2005): Cseresznyefajták termékenyülési sajátosságainak vizsgálata hagyományos és molekuláris módszerekkel. Doktori értekezés. Budapest. pp. 59-66.
21. BEREND I. (1968): A virág és a termés betegségei. In: UBRIZSY G. (Szerk.): Növényvédelmi enciklopédia 2. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest. pp. 216-218.
22. BIGGS A.R., NORTHOVER J. (1988): Influence of temperature and wetness duration on infection of peach and sweet cherry fruits by *Monilinia fructicola*. *Phytopathology*, 78: 1352-1356.
23. BOEHM E.W.A, FREEMAN S., SHABI E., MICHAILIDES T.J. (2003): Microsatellite primers indicate the presence of asexual populations on *Venturia inaequalis* in coastal Israeli apple orchards. *Phytoparasitica*, 31: 236-251.
24. BOGNÁR J. (2012): A bibeszál két élete 1. <http://www.plantarium.hu/tag/pollentomlo/>
25. BOSSHARD E., HILBER-BODMER M., SCHARER H.J., BUNTER M., DUFFY B. (2006): First report of quarantine brown rot pathogen *Monilinia fructicola* on imported stone fruits in Switzerland. *Plant Disease*, 90: 1554.
26. BRENT K.J., HOLLOMON D.W. (2007): Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be managed? Fungicide Resistance Action Committee Monograph No. 1. Newline Graphics.
27. BRÓZIK S., KÁLLAY T. (2000): Meggyfajták In: BRÓZIK S.-KÁLLAY TNÉ (Szerk.) Csonthéjas gyümölcsfajták cseresznye, meggy, őszibarack, kajszli, szilva. Mezőgazda kiadó. Budapest. pp. 50-63.
28. BYRDE R.J.W., WILLETTS H.J. (1977): The brown rot fungi of fruit. Their biology and control, Pergamon Press. Oxford. pp. 156.
29. CALAVAN, E.C., KEITT, G.W. (1948): Blossom and spur blight (*Sclerotinia laxa*) of sour cherry. *Phytopathology*, 38: 857-882.

30. CELLENG A. (2005): Növénykórokozó *Pseudomonasok* virulencia/patogenitás génjeinek izolálása és jellemzése. Doktori értekezés. Budapest. pp. 9.
31. CHANDLER W.A. (1974): Control of peach disease with benomyl in full and modified schedules. Hort Science, 9: 332-333.
32. CHARDONNET C., SAMS C., TRIGIANO R., CONWAY W. (2000): Variability of three isolates of *B. cinerea* affects the inhibitory effects of calcium on this fungus. Phytopathology, 90(7): 769-774.
33. CHATTERTON S., PUNJA Z.K. (2009): Chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase enzyme production by the mycoparasite *Clonostachys rosea* f. *catenulata* against fungal plant pathogens. Canadian Journal of Microbiology, 55(4): 356-367.
34. CHEN F., LIU X., SCHNABEL G. (2012): Dual fungicide resistance in *Monilinia fructicola* and fungicide-mediated transposition of genetic elements. Phytopathology, 102:S4.21.
35. COBBIANCHI D., WATKINS R., (1984): Descriptor list for plum and allied species. AGPG–IBPGR Rome–Brussels. pp. 1–36. (Cit. Soltész, 1997).
36. COCIU V. (1970): Rev. Horticult. Viticult. pp. 12. (Cit. Soltész, 1997).
37. COCIU V., GOZOB T. (1979): Lucrarile Stiintifice pp. 65–70. (Cit. Soltész, 1997).
38. COTA L.V., MAFFIA L.A., MIZUBUTI E.S.G., MACEDO P.E.F. (2009): Biological control by *Clonostachys rosea* as a key component in the integrated management of strawberry gray mold. Biological Control, 50: 222-230.
39. COTA L.V., MAFFIA L.A., MIZUBUTI E.S.G., MACEDO P.E.F., ANTUNES R.F. (2008a): Biological control of strawberry gray mold by *Clonostachys rosea* under field conditions. Biological Control, 46(3): 515-522.
40. COTA L.V., MAFFIA L.A., MIZUBUTI E.S.G. (2008b): Brazilian isolates of *Clonostachys rosea*: colonization under different temperature and moisture conditions and temporal dynamics on strawberry leaves. Letters in Applied Microbiology, 46(3): 312-317.
41. COTE M.J., TARDIF M.C., MELDRUM A.J. (2004): Identification of *Monilinia fructigena*, *M. fructicola*, *M. laxa* and *Monilia polystroma* on inoculated and naturally infected fruit using multiplex PCR. Plant Disease, 88: 1219 – 1225.
42. COX K.D., BRYSON P.K., SCHNABEL G. (2007): Instability of propiconazole resistance and fitness in *Monilinia fructicola*. Phytopathology, 97: 448-453.
43. CSORBA Z., OLGYAY M., BEREND I. (1943): Kísérletek a gyümölcsfavédelem gazdaságosabbá tételére. – Növényegészségügyi Évk. 2-4.
44. DARVAS B. (1999): Rezisztencia kialakulása – In: Polgár A.L.,(Szerk.): A biológiai növényvédelem és helyzete Magyarországon 1999 OMFB megbízásából, Budapest, pp. 45.

45. DAVARYNEJAD G.H., SZABÓ T., SZABÓ Z., NYÉKI J., HOLB I.J. (2008): Abnormalities of the stigma of sour cherry cultivar. *International Journal of Horticulture Science*, 14(3): 31-33.
46. DAVIDSE, L.C., ISHII, T. (1995): Biochemical and molecular aspects of benzimidazoles, N-phenylcarbamates and N-phenylformamidoxines and the mechanisms of resistance to these compounds in fungi. In: Lyr, H.(szerk): *Modern Selective Fungicides*. Gustav Fisher, Jena, Germany, 305-322.
47. DE CAL A., MELGAREJO P. (1999): Effects of long-wave UV light on *Monilinia* growth and identification of species. *Plant Disease*, 83: 62-65.
48. DE CAL A., LARENA I., LINÁN M., TORRES R., LAMARCA N., USALL J., DOMENICHINI P., BELLINI A., DE ERIBE X.O., MELGAREJO P. (2009): Population dynamics of *Epicoccum nigrum*, a biocontrol agent against brown rot in stone fruit. *Journal of Applied Microbiology*, 106(2): 592-605.
49. DENNIS D.T., TURNIP D.H., LEFEBVRE D.D., LAYZELL D.B. (1997): *Plant metabolism*. Addison Wesley Longman, Harlow. (Cit. Celleng, 2005)
50. DE WAARD M.A., VAN NISTELROOY J.G. (1981): Induction of fenarimol-efflux activity in *Aspergillus nidulans* by fungicides inhibiting sterol biosynthesis. *J. Gen. Microbiol.*, 126(2): 483-9.
51. DUCHOSLAVOVÁ J., SIRUCKOVÁ I., ZAPLETALOVA E. (2007): First report of brown rot caused by *Monilinia fructicola* on various stone and pome fruits in the Czech Republic. *Plant Disease*, 91(7): 907.
52. EGEA J., ORTEGA E., CANOVAS J.A., DICENTA F. (2002): The influence of previous selfpollination on later cross-pollination in self-incompatible almond cultivars. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 77: 467-469.
53. ENISZ J. (1989): Fungicid- rezisztencia helyzete Magyarországon. *Növényvédelem*, 25(7): 307.
54. ERIKSSON, O.E., WINKA, W. (1997): Supraordinal taxa of Ascomycota. *Myconet.*, 1:1-16.
55. ÉRSEK T. (1979): Újabb kórokozó gombák magyarországi előfordulása szóján. *Növényvédelem*, 15: 208-215.
56. EVERHART S.E., ASKEW A., SEYMOUR L., HOLB I.J., SCHERM H. (2011): Characterization of three-dimensional spatial aggregation and association patterns of brown rot symptoms within intensively mapped sour cherry trees. *Annals of Botany*, 108: 1195-1202.
57. FAN J.Y., GUO L.Y., XU J.P., LUO Y., MICHAILIDES T.J. (2010): Genetic diversity of populations of *Monilinia fructicola* (Fungi, Ascomycota, Helotiales) from China. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 57(2): 206-212.



58. FARETRA F., POLLASTRO S. (1991): Genetic basis of resistance to benzimidazole and dicarboximide fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) under controlled conditions. *Ann. Microbiol.*, 38: 29-40.
59. FARETRA F., POLLASTRO S. (1993): Isolation, characterization and genetic-analysis of laboratory mutants of *Botryotinia fuckeliana* resistant to the phenylpyrrole fungicide CGA-173506. *Mycol. Res.* 97, 620-624.
60. FODOR J., BARNA B., KIRÁLY Z. (2007): A növények aktív védekezési rendszerei: lokális és szisztémikus ellenállóképesség. pp. 259–271. In: Gáborjányi R., Király Z. (Szerk.) *Molekuláris növénykórtan. Támadás és védekezés.* Agroinform Kiadó, Budapest.
61. FÖRSTER H., ADASKAVEG J.E. (2000): Early brown rot infections in sweet cherry fruit are detected by *Monilinia* specific DNA primers. *Phytopathology*, 90: 171 – 178.
62. FULTON C.E., BROWN A.E. (1997): Use of SSU rDNA group-I intron to distinguish *Monilinia fructicola* from *M. laxa* and *M. fructigena*. *FEMS Microbiology Letters*, 157: 307-312.
63. FULTON C.E., VAN LEEWEN G.C.M., BROWN A.E.(1999): Genetic variation among and within *Monilinia* species causing brown rot of stone and pome fruits. *European. Journal of Plant Pathology*, 105: 495–500.
64. GELL I., LARENA I., MELGAREJO P., (2007): Genetic diversity in *Monilia laxa* populations in Peach Orchards in Spain. *Journal of Phytopathology*, 155: 549–556.
65. GINDRAT D., VAN DER HOEVEN E., MOODY A.R. (1997): Control of *Phomopsis sclerotioides* with *Gliocladium roseum* or *Trichoderma*, *Netherland Journal Plant Pathology*, 83(1): 429-438.
66. GLITS M., FOLK GY. (2000): A cseresznye és a meggy moniliás betegsége In.: Glits M. és Folk Gy. (szerk.): *Kertészeti növénykórtan (3.) - Mezőgazda Kiadó.* Budapest. 206-208.
67. GRIL T., CELAR F., MUNDA A., JAVORNIK B., JAKSE J. (2008): AFLP analysis of intraspecific variation between *Monilinia laxa* isolates from different hosts. *Plant Disease*, 92: 1616-1624.
68. GUBLER W.D., YPEMA H.L., OUIMETTE D.G., BETTIGA L.J. (1996): Occurrence of resistance in *Uncinula necator* to triadimefon, myclobutanil, and fenarimol in California grapevines. *Plant Disease*, 80(8): 902-909.
69. GUIDO A., THOMAS A. (2006): Differenzierung der beiden Erscheinungsformen der Spitzendüre (*Monilinia laxa*) an Sauerkirschen ermöglicht eine Reduktion des Fungizideinsatzes zur Blüte. *Gesunde Pflanzen, Pflanzenschutz – Verbraucherschutz – Umweltschutz*, Springer-Verlag 2006.

70. GUIJARRO B., MELGAREJO P., TORRES R., LAMARCA N., USALL J., DE CAL A. (2007): *Penicillium frequentans* population dynamics on peach fruits after its applications against brown rot in orchards. *Journal of Applied Microbiology*, 104: 659-671.
71. GUTERMUTH Á., LENDVAY B., PEDRYC A. (2010): Different responses of sensitive and resistant apricot genotypes to artificial *Monilia laxa* (Aderh. & Ruhl.) infection. *Acta Agronomica Hungarica*, 58(3): 289-294.
72. GUTERMUTH Á. (2013): A kajszi virágzás kori monília (*Monilinia laxa* Aderhold. et Ruhl.) betegséggel szembeni ellenállósága. Doktori (PhD) értekezés, Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest.
73. HALÁSZ J. (2007): A Kajszi önmeddőségét meghatározó S-allél-rendszer molekuláris háttere. Doktori (PhD) értekezés. Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest.
74. HANTULA J., DUSABENYAGASANI M., HAMELIN R. (1996): Random amplified microsatellites (RAMS): A novel method for characterising genetic variation with fungi. *Eur.J.Pathol.* 26: 159-166.
75. HEATH D.D., IWAMA G.K., DEVLIN R.H. (1993): PCR primed with VNTR core sequences yields species specific patterns and hypervariable probes. *Nucleic Acids Research*, 24: 5782-5785.
76. HOLB I.J. (2003): The brown rot fungi of fruit crops (*Monilia* sp.): I. Important features of their biology.-*International Journal of Horticultural Science*, 9(3-4): 23-26.
77. HOLB I.J. (2004): The brown rot fungi of fruit crops (*Monilinia* spp.) III. Important features of their disease control. *International Journal of Horticulture Science*, 10(4): 31-48.
78. HOLB I.J., SZABÓ Z., DRÉN G., THURZÓ S., RACSKÓ J., DANI M., TORNyai J., NYÉKI J. (2005): Hazai monília fajok elleni környezetkímélő védekezési lehetőségek ökológiai alma és csonthéjas ültetvényekben. *Agrártudományi Közlemények Különszám*, 17: 101-105.
79. HOLB I.J. (2007): A csonthéjasok moniliája elleni védekezés lehetőségei ökológiai meggy- és cseresznyeültetvényekben. *Agrofórum Extra*, 19: 47-48.
80. HOLB I.J. (2008): Brown rot blossom blight of pome and stone fruits: symptom, disease cycle, host resistance, and biological control. *International Journal of Horticulture Science*, 14(3): 15-21.
81. HOLB I.J., SCHERM H. (2007): Temporal dynamics of brown rot in different apple management systems and importance of dropped fruit for disease development. *Phytopathology*, 97: 1104-1111.
82. HOLB I.J., SCHERM H. (2008): Quantitative relations between different injury factors and development of brown rot caused by *Monilinia fructigena* in Integrated and organic apple orchards. *Phytopathology*, 98: 79-86.

83. HOLST-JENSEN A., KOHN L.M., JAKOBSEN K.S., SCHUMACHER T. (1997): Molecular phylogeny and evolution of *Monilinia* (*Sclerotiniaceae*) based on coding and noncoding rDNA sequences. *American Journal of Botany*, 84(5): 686-701.
84. HONG C., MICHAILIDES T. J. (1998): Effect of temperature on the discharge and germination of ascospores by apothecia of *Monilinia fructicola*. *Plant Disease*, 82(2): 195-202.
85. HONTY K., HEVESI M., GÖNDÖR M.G., TÓTH M., BÁCS-VÁRKUTI V., FERENCZY A. (2004): Susceptibility of some traditional pear cultivars of Hungarian and foreign origin to the pathogenic bacterium *Erwinia amylovora*. *International Journal of Horticultural Science*, 10(3): 41-45.
86. HORNOK L. (1987): A fungicidrezisztencia genetikája. In: Vajna L. (szerk.): *Növénypatogén gombák*. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, pp. 158–166.
87. HORVÁTHNÉ P. M. (2009): A *Monilinia fructicola* és a *Monilinia polystroma* megjelenése Magyarországon és a védekezés újabb lehetősége. Doktori értekezés. Budapest. pp. 102.
88. IOOS R., FREY P. (2000): Genomic variation within *Monilinia laxa*, *M. fructigena* and *M. fructicola* and application to species identification by PCR. *European Journal of Plant Pathology*, 106: 373–378.
89. JOHNSON K., SAWYER T., POWELSON M. (1994): Frequency of benzimidazole- and dicarboximide-resistant strains of *B. cinerea* in Western Oregon small fruit and snap bean plantings. *Plant Disease*, 78(6): 572-577.
90. JOSEPOVITS GY. (1991): Növénybetegségek – Fungicid rezisztencia. *Növényvédelem*, 27(8): 337–343.
91. KAPPEL F., SHOLBERG P.L. (2008): Screening sweet cherry cultivars from the Pacific Agri-Food Research Centre Summerland breeding program for resistance to brown rot (*Monilinia fructicola*). *Can. J. Plan. Sci.*, 88: 747-752.
92. KAPTÁS T. (1994): A szőlő szürkerothadásáról. *Gyakorlati Agroforum*, 5: 22 – 23.
93. KATULÁNÉ D.D. (2011): Gombarezisztens szőlő genotípusok molekuláris azonosítása. Doktori értekezés. Gödöllő. pp. 18.
94. KERÉKES L. (1930): A köd. *Növényvédelem*, 4: 117 - 118.
95. KERÉKNÉ V.P. (1981): Meggyfajták és fajtajelöltek termékenyülés-biológiája. Budapest: Doktori értekezés, Kertészeti Egyetem.
96. KHO Y.O., BAËR J. (1968): Observing pollen tubes by mean of fluorescens. *Euphytica*, 17: 298-302.
97. KIRÁLY Z., BARNA B., ÉRSEK T. (1972): Hypersensitivity as a consequence, not the cause, of plant resistance to infection. *Nature*, 239: 456–458.

98. KISS A. (2007): Új *Monilia* faj veszélyezteti a gyümölcsösöket. Gyakorlati Agrofórum 18. évf. 8: 34-37.
99. KLEMENT Z. (2003): Önvédelem a növényvilágban. [http://mindentudas.hu/elodasok-cikkek/item/36-önvédelem -a-növényvilágban.html](http://mindentudas.hu/elodasok-cikkek/item/36-önvédelem-a-növényvilágban.html).
100. KOBAL D.C., WILCOX W.F., SEEM R.C. (1997): Influence of incubation-period humidity on the development of brown rot blossom blight of sour cherry. *Phytopathology*, 87: 42-49.
101. KOVÁCS S., APOSTOL J. (1990): Gombabetegségekkel szemben ellenálló meggyfajták. Lippay János tudományos Ülésszak, előadásainak poszttereinek rövid összefoglalója, Kertészeti Egyetem, Budapest. pp. 112-113.
102. KWON, H.Y., WELLS K.S., HOCH H.C. (1993): Fluorescence confocal microscopy: applications in fungal cytology. *Mycologia*, 85: 721-733.
103. LANE C.R. (2002): A synoptic key for differentiation of *Monilinia fructicola*, *M. fructigena* and *laxa*, based on examination of cultural characters. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 32: 507–511.
104. LARENA, I., DE CAL, MELGAREJO, P. (2004): Solid substrate production of *Epicoccum nigrum* conidia for biological control of brown rot on stone fruits. *International Journal of Food Microbiology*, 94(2): 161-167.
105. LARENA I., DE CAL A., MELGAREJO P. (2010): Enhancing the adhesion of *Epicoccum nigrum* conidia to peach surfaces and its relationship to the biocontrol of brown rot caused by *Monilinia laxa*. *Journal of Applied Microbiology*, 109(2): 583-593.
106. LEROUX P. (1996): Recent developments in the mode of action of fungicides. *Pest. Sci.*, 47: 191-197.
107. LEROUX P., CHAPELAND F., DESBROSSES D., GRETT M. (1999): Patterns of cross-resistance to fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) isolates from French vineyards. *Crop Protection*, 18: 687-697.
108. LESNIAK K.E., ROTHWELL N.L., SUNDIN G.W. (2012): Sensitivity of *Monilinia fructicola* to sterol demethylation inhibitors and analysis of *CYP51* promoter insertions in Michigan populations. *Phytopathology*, 102: S4.68.
109. LI, G. Q., HUANG, H. C., KOKKO, E. G., ACHARYA, S. N. (2002): Ultrastructural study of mycoparasitism of *Gliocladium roseum* on *Botrytis cinerea*. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 43: 211–218.
110. LIBERATOR K.L., WORTHING R.J., MELANDER C., RITCHIE D.F. (2012): Inhibitory effects of 2-aminoimidazole compounds on *Monilinia fructicola*. *Phytopathology*, 102: S4.70.

111. LINSKENS H.F., ESSER K. (1957): Über eine spezifische Anfärbung der Pollenschläuchle im Griffel und die Zahl der Kallosepfropfen nach Selbstung und Fremdung. *Naturwissenschaft*, 44: 16.
112. LOCH J., NOSTICZIUS Á. (2004): Fungicidek In: Loch J. és Nosticzius Á (Szerk.): *Agrokémia és növényvédelmi kémia*. Budapest Mezőgazda Kiadó. pp. 216 - 249.
113. LUO Y., MA Z., MICHAILIDES T.J. (2001a): Analysis of factors affecting latent infection and sporulation of *Monilinia fructicola* on prune fruit. *Plant Disease*, 85: 999-1003.
114. LUO Y., MORGAN D.P., MICHAILIDES T.J. (2001b): Risk analysis of brown rot blossom blight of prune caused by *Monilinia fructicola*. *Phytopathology*, 91: 759-768.
115. LUO Y., MICHAILIDES T.J., MORGAN D.P., KRUEGER W.H. BUCHNER R.P. (2005): Inoculum dynamics, fruit infection, and development of brown rot in prune orchards in California. *Phytopathology*, 95: 1132-1136.
116. MA Z., BOEHM E.W.A., LUO Y., MICHAILIDES T.J. (2001): Population structure of *Botryosphaeria dothidea* from pistachio and other hosts in California. *Phytopathology*, 91: 665-672.
117. MA Z., LUO Y., MICHAILIDES T.J., (2003a): Nested PCR assays for detection of *Monilinia fructicola* in stone fruit orchards and *Botryosphaeria dothidea* from pistachios in California. *Journal of Phytopathology*, 151: 312-322.
118. MA Z, YOSHIMURA AM, MICHAILIDES TJ. (2003b): Identification and characterisation of benzimidazole resistance in *Monilinia fructicola* from stone fruit orchards in California. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 7145-7152.
119. MA Z., MICHAILIDES T.J. (2005): Genetic structure of *Botrytis cinerea* populations from different host plants in California. *Plant Disease*, 89: 1083-1089.
120. MA Z., YOSHIMURA M.A., HOLTZ B.A., MICHAILIDES T.J. (2005): Characterization and PCR- based detection of benzimidazole-resistant isolates of *Monilinia laxa* in California. *Pest. Manag. Sci.*, 61 (5): 449-457.
121. MADRIGAL, C., TADEO, J.L., MELGAREJO, P. (1991): Relationship between flavipin production by *Epicoccum nigrum* and antagonism against *Monilinia laxa*. *Mycological Research*, 95(12): 1375-1381.
122. MARTIN F.M. (1959): Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescens. *Stain Technology*, 34: 125-128.
123. MCCLELLAND M., PETERSEN C., WELSH J. (1992): Length polymorphisms in tRNA intergenic spacers detected by using the polymerase chain reaction can distinguish streptococcal strains and species. *Journal of Clinical Microbiology*, 30: 1499-1504.

124. MCDERMOTT J.M., McDONALD B.A. (1993): Gene flow in plant pathosystems. *Annu. Rev. Phytopathology*, 31: 353-373.
125. McDONALD B.A., LINDE C. (2002): Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40: 349-379.
126. MCGRATH M.T., SHISHKOFF N. (2001): Resistance to triadimefon and benomyl: dynamics and impact on managing cucurbit powdery mildew. *Plant Disease*, 85: 147-154.
127. MELGAREJO P., CARRILLO R., SAGASTA E.M. (1986): Potential for biological control of *Monilinia laxa* in peach twigs. *Crop Protection*, 5(6): 422-426.
128. MEZŐ G., SCHWEIGERT A. (2005): Rendszeres megelőző védekezéssel a meggy monília betegségére ellen. *Gyakorlati Agrofórum*, 1: 33-35.
129. MICHAILIDES T.J., MORGAN D.P. (1997): Influence of fruit - to fruit contact on the susceptibility of French prune to infection by *Monilinia fructicola*. *Plant Disease*, 81(12): 1416-1424.
130. MITTMANN-MAIER G. (1940): Untersuchungen über die Moniliaresistenz von Sauerkirschen. (Investigations on the *Monilia* resistance of sour cherries.) *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz*. 50: 84-94.
131. MORANDI, M. A. B., MAFFIA, L. A., MIZUBUTI, E.S. G., ALFENAS, A. C., BARBOSA, J. G. (2003): Suppression of *Botrytis cinerea* sporulation by *Clonostachys rosea* on rose debris: a valuable component in *Botrytis* blight management in commercial greenhouse. *Biological Control*, 26(3): 311-317.
132. MORDUE J.E.M. (1979): Commonwealth Mycological Institute Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. CMI, Surrey, England. pp. 616-619.
133. NAGY P. (1965): Termőrügyképződéssel és termékenyüléssel kapcsolatos vizsgálatok. In: *Kertészeti Kutató Intézet 1965. évi jelentései*, Budapest. pp. 258- 274.
134. NEI M. (1978): Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583-590.
135. NEI M. (1987): *Molecular Evolutionary Genetics*. New York, Columbia University Press, pp. 187-192.
136. OEPP/EPP. (2003): EPPO Standards, Diagnostic Protocols for regulated pests. *EPPO Bulletin*, 33: 245–247.
137. OCHIAI N., FUJIMURA M., MOTOYAMA T., ICHIISHI A., USAMI R., HORIJOSHI K., YAMAGUCHI I. (2002): Characterization of mutations in the two-component histidine kinase gene that confer fludioxonil resistance and somatic sensitivity in the *os-1* mutants of *Neurospora crassa*. *Pest Manag. sci.*, 57: 437-442.

138. OCSKÓ Z. (2012): Növényvédő szerek, terménynövelő anyagok 2012. Reálszisztéma Dabasi Nyomda Zrt. Budapest, pp. 546.
139. OGAWA J.M., ZEHR E.I., BIRD G.W., RITCHIE D.F., URIU K., UYEMOTO J.K. (1995): Compendium of stone fruit diseases. - APS Press, St. Paul.
140. OGAWA J.M., ENGLISH H. (1960): Relative pathogenicity of two brown rot fungi, *Sclerotinia laxa* and *Sclerotinia fructicola*, on twigs and blossoms. *Phytopathology*, 50: 550-555.
141. OGAWA J.M., MCCAIN A.H. (1960): Relations of spore moisture content to spore shape and germination reaction temperature (abs.) *Phytopathology*, 50: 85.
142. ONDEJKOVA N., HUDECOVA M., BACIGALOVA K. (2010): First report on *Monilinia fructicola* in the Slovak Republic. *Plant Protection Science*, 46: 181-184.
143. ORTH A.B., SFARRA A., PELL E.J., TIEN M. (1994): Characterization and genetic analysis of laboratory mutants of *Ustilago maydis* resistant to dicarboximide and aromatic hydrocarbon fungicides. *Phytopathology*, 84: 1210-1214.
144. OSHIMA M., FUJIMARA M., BANNO S., HASHIMOTO C., MOTOYAMA T. ICHIISHI A., YAMAGUCHI I. (2002): A point mutation in the two component histidine kinase BcOS-1 gene confers dicarboximide resistance in field isolates of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, 92: 75-80.
145. OTT P., BESENYEI E., SZABÓ E., KLEMENT Z., VARGA G., CELLENG A., BOZSÓ Z., SZATMÁRI Á., (2008): A csoportunk által leírt általános növényi rezisztencia patológiai, biokémiai és molekuláris folyamatainak további vizsgálata. Zárójelentés. OTKA AT049318. pp. 2, 23.
146. PACHENARI A., DIX N. J. (1980): Production of toxins and wall degrading enzymes by *Gliocladium roseum*. *Transactions of British Mycological Society*, 74(3): 561-566.
147. PAPAIVIZAS G.C. (1985): *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, ecology, and potential for biocontrol. *Ann. Rev. Phytopathol.* 23: 23-54.
148. PASZTERNÁK F., VÁLYI I., NYÉKI J. (1982): A vegyszeres kezelések hatása a Pándy meggy gyümölcskötődésére és a monília jelentősége az üzemi ültetvényekben. *Növényvédelem*, 18(9): 407-411.
149. PELLEGRINO C., GULLINO M.L., GARIBALDI A., SPADARO D. (2009): First report of brown rot of stone fruit caused by *Monilinia fructicola* in Italy. *Plant Disease*, 93: 668.
150. PETHŐ M. (1993): Mezőgazdasági növények élettana Akadémiai Kiadó. Budapest. pp. 209.
151. PETRÓCZY M., PALKOVICS L. (2006): First report of the Quarantine Brown rot Pathogen *Monilinia fructicola* on Imported Stone Fruits in Hungary. *Plant Disease*, 90: 375.
152. PETRÓCZY M., PALKOVICS L. (2008): Egy újabb *Monilia* faj Magyarországon. 54. Növényvédelmi Tudományos Napok. pp. 38.

153. PILLONEL C., MEYER T. (1997): Effect of phenylpyrroles on glycerol accumulation and protein kinase activity of *Neurospora crassa*. Pesticide Science, 49: 229-236.
154. PINTÉR Cs. (1998): Csonthéjasok tavaszi virág- és hajtáspusztulása - Kertészet és szőlészet, 1998/27: 16-17.
155. PREIL W. (1970): Fluoreszenzmikroskopische Beobachtung des Wachstums von Pollenschläuchen im Griffel- und Fruchtknotengewebe. Zeiss Inf. 18: 24-25.
156. PUSEY P.L., HOTCHKISS M.W., DULMAGE H.T., BAUMGARDNER R.A., ZEHR E.I., REILLY C.C., WILSON C.L. (1988): Pilot test for commercial production and application of *Bacillus subtilis* (B-3) for postharvest control peach brown rot. Plant Disease, 72(7): 622-625.
157. REHNER S.A., SAMUELS G.J. (1994): Taxonomy and phylogeny of *Gliocladium* analysed from nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. Mycological Research, 98(6): 625-634.
158. RITCHIE D.F. (1983): Mycelial growth, peach fruit-rotting capability, and sporulation of strains of *Monilinia fructicola* resistant to dichloran, iprodione, procymidone and vinclozolin. Phytopathology, 73: 44-47.
159. RODRÍGEZ M.A., CABRERA G., GOZZO F.C., EBERLIN M.N., GODEAS A. (2011): *Clonostachys rosea* BAFC3874 as a *Sclerotinia sclerotiorum* antagonist: mechanisms involved and potential as a biocontrol agent. Journal of Applied Microbiology, 110(5): 1177-1186.
160. ROZSNYAY Zs., APOSTOL J. (2000): Meggy és cseresznye fajták *Cytospora* gombák iránti fogékonysága. Gyakorlati Agrofórum, 11(13): 41 - 42.
161. ROZSNAY Zs., VAJNA L. (2001): Moniliajárvány a csonthéjasokban. Kertészet és szőlészet, 2001/29: 8-10.
162. ROZSNYAY Zs. (2004): Meggyfajták monília-ellenállósága. Kertészet és Szőlészet, 51-52: 15.
163. ROZSNYAY Zs. (2005): A csonthéjasok monília-szerű betegségei az utóbbi évek tapasztalatainak tükrében. Gyakorlati Agrofórum, 16(1): 31-32.
164. SALLAI P. (2004): A meggy monília-szerű betegsége. In: Inásy F és Balázs K. (szerk.): Meggy, cseresznye. Agroinform Kiadó. Budapest. 120-123.
165. SCHNABEL G., BRYSON P.K., BRIDGES W.C., BRANNEN P.M.. (2004): Reduced sensitivity in *Monilinia fructicola* to propiconazole in Georgia and Implications for disease management. Plant Disease, 88: 1000-1004.
166. SCHROERS, H. J., SAMUELS, G. J., SEIFERT, K. A., GAMS, W. (1999): Classification of the mycoparasite *Gliocladium roseum* in *Clonostachys* as *G. rosea*, its relationship to *Bionectria ochroleuca*, and notes on other *Gliocladium*-like fungi. Mycologia, 91(2): 365-385.



167. SCHWEIGERT A. (1996): A csonthéjasok moniliniás betegsége. *Agrofórum*, 7(1): 41-43.
168. SESAN T., OPREA M. (1999): Influence of antagonistic micromyceta from phyllosphere on the main pathogens of apricot-tree. XI. International Symposium on Apricot Culture. [http://www.actahort.org/books/488/488\\_117.ht](http://www.actahort.org/books/488/488_117.ht).
169. SKYLAKAKIS G. (1982): The development and use of models describing outbreaks of resistance to fungicides. *Crop Protection*, 1: 249–292.
170. SNYDER C.L., JONES A.L. (1999): Genetic variation between strains of *Monilinia fructicola* and *M. laxa* isolated from cherries in Michigan. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 21: 70-77.
171. SOLTÉSZ M. (1997): Integrált gyümölcsstermesztés. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
172. SONSTEBY A. (2002): Antagonism of *Trichoderma harzianum* (atriviride) P1 and *Gliocladium roseum* against *Botrytis cinerea* in organic growing of strawberries. NJF-Congress No 346 Organic production of Fruits and Berries, Denmark, Proceeding, pp. 39-43.
173. STENSVAND A., TALGO V., BORVE J. (2001): Seasonal production of conidia of *Monilinia laxa* mummified fruits, blighted spurs and flowers of sweet cherry. *Gartenbauwissenschaft*. 66(6): 273-281.
174. STEVIĆ M., VUKŠA P., ELEZOVIĆ I. (2010): Resistance of *Venturia inaequalis* to demethylation inhibiting (DMI) fungicides. *Agriculture*, 97(4): 65-72.
175. STEVIĆ M., VUKŠA P. (2006): Osetljivost *Monilinia laxa* (Ader. & Ruhl.) na fungicide različitog mehanizma delovanja (Sensitivity of *Monilinia laxa* (Ader. & Ruhl.) to Fungicides Having Different Modes of Action). *Pestic. Phytomed. (Belgrade)*, 21: 297-304.
176. STÖSSER R. (1980): Über das Wachstum von Pollenschläumchen bei Prunus, dargestellt anhand von Schnittpräparaten (Pollen tube growth of Prunus species [cherries, plums] demonstrated by means of microtome sections). *Angewandte Botanik*, 54: 319-327.
177. STÖSSER R., ANVARI S.F. (1981): Das Wachstum der Pollenschläuche im Fruchtknotengewebe von Kirschen. *Gartenbauwissenschaft*, 46: 154-158.
178. STÖSSER R., ANVARI S.F. (1983): Pollen tube growth and fruit set as influenced by senescence of stigma, style and ovules. *Acta Horticulturae*, 139: 13-22.
179. SUTTON J.C., LI D.W., PENG G., YU H., ZHANG P., VALDEBENITO-SANHUEZA R. M. (1997): *Gliocladium roseum*: a versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops. *Plant Disease*, 81(4): 316-328.
180. SZABÓ T. (2004): Meggy- és cseresznyefajták és alanyok. In: INÁTSY F., BALÁZS K. (Szerk.): Integrált növénytermesztés Meggy, cseresznye. Agroiinform Kiadó, Budapest, pp. 25-36.

181. SZALÓKI SZ. (2011): Barnarothadást okozó *Monilinia* fajok azonosítása és fajon belüli genetikai variabilitás meghatározása. Diplomamunka. Debrecen. pp. 34.
182. TAKEZAKI N., NEI M., (1996): Genetic distance and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics Society of America*, 144: 389-399.
183. TAKSONYI P. (2012): Az *Erysiphe necator* fungicidekkel szembeni rezisztenciája szőlőültetvényekben. Doktori értekezés. Keszthely. pp. 35.
184. TAMM L. MINDER CHR.E., FLÜCKIGER W. (1995): Phenological analysis of brown rot of sweet cherry caused by *Monilinia laxa*. *Phytopathology*, 85(4): 401 - 408.
185. TICS 1962: (Cit. Soltész, 1997)
186. TESTONI A., ALBERTINI A. (1983): *Frutticoltura*, 45(2): 31–40. (Cit. Soltész, 1997)
187. THURZÓ S., DANI M. (2005): Monilia fertőzöttség mértéke környezetkímélő meggytermesztésben X. Tiszántúli Növényvédelmi Fórum. pp. 184–189.
188. TÓTH M. (2008): Gyümölcs genotípusok gyors kiemelésére alkalmas nemesítési és speciális szelekciós eljárás kidolgozása. In.: Budapest Corvinus Egyetem Tudásközpont Éves jelentés 2008. pp. 13-20.
189. TÓTH B., VAJNA L. (1980): A *Venturia inaequalis* (Cooke) winteQoi- r rezisztenciája a benzimidazol típusú szisztémikus hatású fungicidekkel szemben. *Növényvédelem*, 16: 151-158.
190. TRUKLJA V. (2000): Antagonizam saprofitnih bakterija prema *Monilinia spp.* in vitro. (Antagonistic effect of saprophytic bacteria on *Monilinia spp.* in vitro.) *Zastita bilja*, 51:(1-2) pp. 123-155.
191. TUROVCEV N.I., TUROVCEVA V.A. (1985): *Szadov. Vinogr. Vinod. Moldavii*, 6: 25-27. (Cit. Soltész, 1997).
192. TURÓCZI GY. (1999): Biológiai védekezés növényi kórokozókkal szemben. In: A biológiai növényvédelem és helyzete Magyarországon 1999 – Különös tekintettel az EU 5. K+F programjában való részvételre (szerk.: Polgár A.L.), OMBF, Budapest, pp. 100-151.
193. TZONEVA E., TZONEV R. (1999): Blossom blight caused by *Monilinia laxa* (Ehr.) - A conception on infection mechanism. *Acta Hort. (ISHS)*, 488: 711-714.
194. UBRIZSY, G. (1965): A biológiai védekezés lehetőségei a növénykórtanban. In: Ubrizsy G., (ed) *Növénykórtan I.*, Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 132-188.
195. UBRIZSY G., VÖRÖS J. (1968): *Mezőgazdasági mikológia.* Akadémia Kiadó, Budapest, pp. 39.,301.,422.,429.
196. VAJNA, L. (1987): *Gliocladium* fajok. (*Gliocladium* species.) In: *Növénypatogén gombák.* Mezőgazdasági Kiadó. Budapest. pp. 212–213.

197. VAJNA L., (2007): Növénykórokozók forgalmazása globalizálódó világunkban: Várjuk a váratlant? Növényvédelem, 43: 307–313.
198. VALOVICS A. (2010): Áttekintés az utóbbi néhány év változásáról. Mezőhír Melléklet pp. 40-41.
199. VAN DE PEER Y., DE WACHTER R., (1997): Construction of evolutionary distance trees with TREECON for Windows: accounting for variation in nucleotide substitution rate among sites. Comput Appl Biosci., 13: 227–230.
200. VAN LEEUWEN G.C.M., STEIN A., HOLB I., JEGER M.J. (2000): Yield loss caused by *Monilia fructigena* (Aderh. and Ruhl.) Honey, and spatio-temporal dynamics of disease development. European Journal of Plant Pathology, 106: 519-528.
201. VAN LEEUWEN G.C.M., BAAYEN R.P., HOLB I.J., JEGER M.J. (2002): Distinction of the Asiatic brown rot fungus *Monilia polystroma* sp. nov. from *M. fructigena*. Mycological Research, 106: 444-451.
202. VÉGHÉLYI K. (2000): Csonthéjasok moniliniás virágszáradása. Kertészet és Szőlészet, 15: 13.
203. VÉGHÉLYI K. (2006): Három monilia faj fertőzheti a gyümölcsöket Kertészet és Szőlészet, 2006/23: 10-11.
204. VÉGHÉLYI K., APOSTOL J., JONES A.L., IEZZONY A. (1996): Magyar-amerikai együttműködés a betegségellenálló meggyfajták nemesítése érdekében. Moniliniás virágszáradás és gyümölcsrothadás okozója (*Monilinia laxa* /Aderhold et Ruhland/Honey és *Monilinia fructicola* /G. wint./Honey) elleni rezisztencia. Új Kertgazdaság. 2(1): 53-58.
205. VETTER J. (2003): A gombák élettani folyamatai. In: Jakucs E., Vajna L. (Szerk.) Mikológia. Agroinform Kiadó és Nyomda Kft. Budapest.
206. VIDA G. (1981): Elemi evolúciós változás a populációban. In: Vida G. (szerk.): Evolúció I. Az evolúció genetikai alapjai. Natura Kiadó, Budapest, pp. 53-82.
207. VIRÁNYI F. (2003): Növénykórtani mikológia. In.: JAKUCS E., VAJNA L. (Szerk.): Mikológia Budapest Agroinform Kiadó és Nyomda Kft. pp. 343 -350.
208. WALKER J.A., MAUDE R.B. (1975): Natural occurrence and growth of *Gliocladium roseum* on the mycelium and sclerotia of *Botrytis alli*. Trans. Br. Mycol. Soc., 65: 335-338.
209. WALTER M., MCLAREN G.F., FRASER J.A., FRAMPTON C.M., BOYD-WILSON K.S.H., PERRY J.H. (2004): Methods of screening apricot fruit for resistance to brown rot caused by *Monilinia spp.* Australasian Plant Pathology, 33(4): 541-547.
210. WEAVER L.O. (1950): Effect of temperature and relative humidity on occurrence of blossom blight of stone fruits. Phytopathology, 40: 1136-1153.

211. WEISING K., ATKINSON R.G., GARDNER R.C. (1995): Genomic fingerprinting by microsatellite-primed PCR: A critical evaluation. *PCR Methods Appl.*, 4: 249-255.
212. WICKS T. (1981): Suppression of *Monilinia laxa* spore production by fungicides applied to infected apricot twigs during dormancy. *Plant Disease*, 65: 911- 912.
213. WILCOX W.F. (1988): Influence of Environment and inoculum density on the incidence of brown rot blossom blight of sour cherry. *Phytopathology*, 79: 530-534.
214. WITTIG, H.P.P., JOHNSON, K.B., PSCHIEDT, J.W. (1997): Effect of ephiphytic fungi on brown rot blossom blight and latent infections in sweet cherry. *Plant Disease*, 81: 383 - 387.
215. WORMALD H. (1954): The brown rot diseases of fruit trees. Ministry of Agriculture and Fisheries. Her Majesty's Stationery office, London, pp. 1-101.
216. WORTHING C., HANCE R. (1991): The Pesticide Manual – The British Crop Protection Council – Ninth Edition.
217. YOSHIMURA M.A., LUO Y., MA Z.H., MICHAELIDES T.J. (2004): Sensitivity of *Monilinia fructicola* from stone fruit to thiophanate-methyl, iprodione and tebuconazole. *Plant Disease*, 88 (4): 373–378.
218. YU, H., SUTTON, J. C. (1997): Morphological development and interactions of *Gliocladium roseum* and *Botrytis cinerea* in raspberry. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 19(3): 237-246.
219. YOURMAN L.F., JEFFERS S.N. (1999): Resistance to Benzimidazole and Dicarboximide Fungicides in Greenhouse Isolates of *Botrytis cinerea*. *Plant Disease*, 83(6): 569–575.
220. ZEHR F.I., MILLER R.W., GORSUCH C.S.(1984): Reduce use of fungicides and insecticides on peaches. *Peach Times*, 4: 6-14.
221. ZHANG D., SPADARO D., GARIBALDI A., GULLINO M.L. (2010a): Efficacy of the antagonist *Aureobasidium pullulans* PL5 against postharvest pathogens of peach, apple and plum and its modes of action. *Biological Control*, 54(3): 172-180.
222. ZHANG D., SPADARO D., GARIBALDI A., GULLINO M.L. (2010b): Selection and evaluation of new antagonists for their efficacy against postharvest brown rot of peaches. *Postharvest Biology and Technology*, 55: 174-181.
223. ZIETKIEWICZ E., RAFALSKI A., LABUNDA D. (1994): Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20: 178-183.
224. ZIMOWSKA B. (2004): Biotic effect of *Phyllospheric* fungi on the growth and development of *Seimatosporium hypericinum* (Ces.) Sutton. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Horticulture*, Volume 7, Issue 2.

225. ZIVKOVIC S., STOJANIVIC S., IVANOVIC Z., GAVRILOVIC V., POPOVIC T., BALAZ J. (2010):  
Screening of antagonistic activity of microorganisms against *Colletotrichum acutatum* and  
*Colletotrichum gloeosporioides*. Arch. Biol. Sci. Belgrade, 62(3): 611-623.
226. [http://www.arysta-agro.hu/index.php?mit=20&termek\\_id=28&t\\_kat1\\_id=12](http://www.arysta-agro.hu/index.php?mit=20&termek_id=28&t_kat1_id=12).

## M2 - Mellékletek

1.táblázat: A cseresznye és a meggy moniliniás megbetegedése ellen 2012-ben használható növényvédő szerek (Ocskó, 2012)

Készítmény	Hatóanyag	Kategória
<b>Szerves fungicidek</b>		
<b>Kontakt hatóanyagúak</b>		
Antracol 70 WP	propineb	II.
Buvidid K 370 SC	kaptán+karbamid	I.
Capan 50 WP	kaptán	I.
Dithane M-45	mankoceb	III.
Indofil M-45	mankoceb	II.
Manco 80 WP	mankoceb	III.
Manzate 75 DF	mankoceb	III.
Merpan 50 WP (80 WDG, 48SC)	kaptán	I.
Orthacid 50 WP (80WDG)	kaptán	I.
Penncozeb DG (Plus)	mankoceb	III.
Vondozeb DG	mankoceb	III.
<b>Sziszémikus és lokálszisztémikus hatóanyagúak</b>		
<b>Benzimidazolok</b>		
Cercobin WDG	tiofant-metil	II.
Topsin-M 70 WDG	tiofant-metil	II.
<b>Dikarboximidek</b>		
Rovral Aquaflo	iprodition	I.
<b>Triazolok és egyebek</b>		
Chorus 75 WP (50WP)	ciprodinil	III.
Folicur Solo (25WG)	tebukonazol	II.
Mirage 45 EC	prokloráz	II.
Orius 20 EW	tebukonazol	II.
Riza 250 EW	tebukonazol	I.
Signum WG	boscalid + piraklostrobin	II.
Systane Duplo	miklobutanil	II.
Switch 62,5 WG	fludioxonil+ciprodinil	III.
Topas 100 EC	penkonazol	III.
<b>Hydroxianilidek</b>		
Teldor 500 SC	fenhexamid	III.
<b>Szervetlen fungicidek</b>		
<b>Fémrész</b>		
Bordómix DG	bázikus réz(II)szulfát	III.
Champion 50 WP (2FL, WG)	rézhidroxid	III.
Copac Flow	rézhidroxid	III.
Cuproxat FW	tribázikus rézszulfát	III.
Funguran-OH 50 WP	rézhidroxid	III.
Joker 77 WP	rézhidroxid	III.
Jolly 77 WP	rézhidroxid	III.
Nordox 75 WG	réz(I)oxid	III.
Pomuran Réz	rézhidroxid	III.
<b>Kombinált hatóanyagúak</b>		
Cupertine F	réz + folpet	I.
Cuprofix 30 DG	réz + mankoceb	III.

2. táblázat: A fungicid érzékenység vizsgálat során használt *Monilinia* izolátumok származási helye, gazdanövénye, származási ideje és faji besorolása.

Faj	Gazdanövény	Hely	Idő	Izolátum név
<i>M. laxa</i>	kajszi	Kunmadaras	2004	Sz1, Sz6, Sz9, Sz13
<i>M. laxa</i>	kajszi	Szombathely	2002	Sz28
<i>M. laxa</i>	meggy	Kunmadaras	2004	Sz2, Sz3
<i>M. laxa</i>	meggy	Vasvár	2002	Sz20, Sz22, Sz23, Sz27
<i>M. laxa</i>	meggy	Szombathely	2002	Sz30, Sz32, Sz33
<i>M. laxa</i>	meggy	Budapest	2005	Sz54, Sz55
<i>M. laxa</i>	meggy	Kisvárdá	2004	B32
<i>M. laxa</i>	cseresznye	Dunaföldvár	2004	Sz5
<i>M. laxa</i>	cseresznye	Tiszabura	2004	Sz10
<i>M. laxa</i>	cseresznye	Vasvár	2002	Sz19, sz34
<i>M. laxa</i>	mandula	Érd	2004	Sz40, Sz41, Sz42, Sz47
<i>M. laxa</i>	szilva	Kisvárdá	2004	B1, B3, B5, B12
<i>M. fructigena</i>	kajszi	Vasvár	2002	Sz31
<i>M. fructigena</i>	kajszi	Kunmadaras	2005	Sz71, Sz78
<i>M. fructigena</i>	kajszi	Zsámbok	2005	Sz90
<i>M. fructigena</i>	őszibarack	Kunmadaras	2004	Sz7
<i>M. fructigena</i>	őszibarack	Kisvárdá	2004	B28a, B28b
<i>M. fructigena</i>	alma	Kunmadaras	2004	Sz8
<i>M. fructigena</i>	alma	Kisvárdá	2004	B20
<i>M. fructigena</i>	körte	Kunmadaras	2005	Sz81, Sz83
<i>M. fructigena</i>	szilva	Kunmadaras	2005	Sz87, Sz89

3. táblázat: A vizsgált *Monilinia* izolátumok növekedési üteme gazdanövényenként csoportosítva.

	átlag (0-48 h-ig)	Átlag (48-72 h-ig)	átlag (72-94 h-ig)	átlag (94 - 120 h-ig)
<b>ALMA</b>	0,28	0,33	0,45	0,9
<b>BIRS</b>	0,4	0,2	0,95	0,65
<b>KÖRTE</b>	0,45	0,4	0,76	0,55
<b>CSERESZNYE</b>	0,51	1,02	0,4	0,24
<b>MANDULA</b>	0,93	0,56	0,36	0,34
<b>MEGGY</b>	0,81	0,62	0,39	0,3
<b>ŐSZIBARACK</b>	0,7	1,15	0,35	0,25
<b>KAJSZI</b>	0,79	0,88	0,36	0,26
<b>SZILVA</b>	0,42	0,63	0,44	0,46

4. táblázat: A meggyfajták bibeelhalásának mértéke (az általunk felállított Skála alapján) az alkalmazott *Monilinia laxa* izolátumokkal való fertőzés és a fertőzetlen bibék értékei alapján három egymást követő nap

Meggyfajták	<i>M. laxa</i> izolátumok					Kontrol
	Sz 10	Sz 13	Sz 14	Sz 46	B 22	
Érdi bőtermő 1.nap	0,67	0,92	0,17	0,58	0,50	0
Érdi bőtermő 2.nap	1,50	1,42	0,58	0,75	0,67	0
Érdi bőtermő 3.nap	2,00	1,50	1,25	1,92	1,00	0,50
Újfehértói fürtös 1.nap	1,25	0,83	0,50	0,67	0,75	0
Újfehértói fürtös 2.nap	1,58	1,08	0,67	1,25	1,25	0
Újfehértói fürtös 3.nap	1,75	1,17	1,83	2,42	1,75	0
Kántorjánosi 1.nap	0,92	0,83	0,83	0,67	0,33	0
Kántorjánosi 2.nap	1,08	1,17	0,83	1,00	0,67	0
Kántorjánosi 3.nap	2,17	1,92	1,92	2,25	1,08	0,50
Cigánymeggy 59 1.nap	2,00	1,58	0,75	0,75	1,67	0
Cigánymeggy 59 2.nap	2,25	1,92	1,58	1,75	1,83	0
Cigánymeggy 59 3.nap	3,42	2,25	3,00	2,75	2,42	2,25
Érdi jubileum 1.nap	1,42	1,42	1,08	1,00	1,08	0
Érdi jubileum 2.nap	1,83	1,50	1,92	2,08	1,42	0,75
Érdi jubileum 3.nap	2,83	1,92	3,50	3,55	2,33	3,00
Pándy 279 1.nap	0,75	0,92	0,58	0,83	1,08	0
Pándy 279 2.nap	1,00	1,17	0,83	1,25	1,33	0
Pándy 279 3.nap	2,25	1,50	1,67	2,50	1,42	0,75
Csengődi 1.nap	1,58	1,42	0,83	0,83	1,00	0
Csengődi 2.nap	2,42	2,00	1,67	1,25	1,33	0
Csengődi 3.nap	3,08	2,67	2,83	2,75	1,92	1,00

5. táblázat: A vizsgált meggyfajtákon végzett bibefertőzési kísérlet statisztikai értékelése.

Kéttényezős varianciaanalízis ismétlésekkel

VARIANCIANALÍZIS

Tényező	SS	df	MS	F	p-érték	F krit.
Meggyfajta	535,9857	20	26,79929	52,96422	1,7E-147	1,579643
Izolátum	41,85238	4	10,4631	20,67853	1,78E-16	2,379635
Kölcsönhatás	122,681	80	1,533512	3,030725	4,69E-16	1,286544
Belül	584,4167	1155	0,505988			
Összesen	1284,936	1259				



6. táblázat: A fluoreszcencia erőssége Quetsch technikával készített Cigánymeggy 59 és Érdi bőtermő bibepreparátum esetében, amely 12 és 24 óráig tartó pollen és konídium szuszpenzióval történő kezelést kapott

	<b>pollen192-256 átlag</b>	<b>konídium192-256átlag</b>
<b>Cigánymeggy/ 12óra</b>	95,01674242	63,64609091
<b>Cigánymeggy/ 24óra</b>	69,11588462	45,32307692
<b>Érdi bőtermő/ 12óra</b>	43,69918556	35,77703991
<b>Érdi bőtermő/ 24óra</b>	36,06646429	27,75596875

7. táblázat: A fluoreszcencia erőssége Quetsch technikával készített Pándy 279 bibepreparátum esetében, amely 1, 2, 4, 24, 48 óráig tartó pollen és konídium szuszpenziós kezelést kapott

	<b>pollen192-256 átlag</b>	<b>konídium 192-256 átlag</b>
<b>Pándy 279/ 1óra</b>	7,935844121	5,861377247
<b>Pándy 279/ 2óra</b>	8,758597339	7,261432139
<b>Pándy 279/ 4óra</b>	6,118943353	4,134309644
<b>Pándy 279/ 24óra</b>	4,659849748	4,633128738
<b>Pándy 279/ 48óra</b>	3,33660572	4,980277236

8. táblázat: A fluoreszcencia erőssége gyantába ágyazott Pándy279 bibepreparátumnál, amely 8, 21, 24 és 48 óráig tartó pollen és konídium szuszpenziós kezelést kapott

	<b>pollen 192-256 átlag</b>	<b>konídium 192 - 256 átlag</b>
<b>Pándy 279/ 8óra</b>	23,23191667	30,0538125
<b>Pándy 279/ 21óra</b>	68,12344444	34,63853747
<b>Pándy 279/ 24óra</b>	67,63061538	23,76268
<b>Pándy 279/ 48óra</b>	45,44973333	

9. táblázat: A virágzási időszakban *in vitro* mesterséges ágfertőzés hét meggyfajtán öt különböző gazdanövényről származó *Monilinia* izolátummal, az inkubáció után 12 nappal a nekrozis kiterjedése cm-ben mérve.

Izolátum/ meggyfajta	Érdi bőtermő	Újfehértói fürtös	Kántorjánosi 3	Cigánymeggy 59	Érdi jubileum	Pándy 279	Csengődi
Sz5	6	6	8	0	13,7	8	0
Sz5	2,3	6	4,6	0	7,7	5	7,5
Sz5	10	6	6,3	0	8	3	8,5
Sz5	7	6	6,3	0	8	5,3	7
Sz13	4,3	11	22	7	16,3	6,5	0
Sz13	4,3	11	6,7	2	7	3	0
Sz13	7,5	8	8,3	0	11	4,2	0
Sz13	6,5	5,2	12,3	0	11,3	4,6	0
Sz14	2	5,5	10,5	0	7,4	5	0
Sz14	6	1,8	14,5	0	5,2	4,6	0
Sz14	7,3	7,2	7,6	0	5,5	4,8	0
Sz14	5	4,8	10,9	0	6,0	4,8	0
Sz26	3,7	5,2	23,5	0	5,5	8,4	0
Sz26	5	10,8	5,6	7	4,7	11,5	0
Sz26	10,6	8	20	2,5	9	5,5	0
Sz26	2	8	8	1,5	6,4	4,5	0
Sz46	4,7	6,2	9,3	0	6,5	14,2	0
Sz46	7,2	9	24,5	0	7	7	4
Sz46	7,5	5	9,5	0	8,5	7,2	9
Sz46	5,5	6,5	8	0	7	3,8	1,3

10. táblázat: A virágzási időszakban végzett *in vitro* ágfertőzési adatok statisztikai elemzése.

Kéttényezős varianciaanalízis ismétlésekkel

VARIANCIANALÍZIS

<i>Tényezők</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-érték</i>	<i>F krit.</i>
Izolátum	102,9517	4	25,73792	2,314468	0,06342466	2,472930305
Meggyfajta	1138,919	5	227,7838	20,48334	1,3353E-13	2,315687198
Kölcsönhatás	244,4056	20	12,22028	1,098902	0,36493801	1,688299278
Belül	1000,84	90	11,12044			
Összesen	2487,116	119				

11. táblázat: A nyugalmi időszakban *in vitro* mesterséges ágfertőzés hét meggyfajtán öt különböző gazdanövényről származó *Monilinia* izolátummal, az inkubációt után 35 nappal a nekrozis kiterjedése cm-ben mérve

Meggyfajták /izolátumok	Érdi bőtermő	Újfehértói fürtös	Kántorjánosi 3	Cigánymeggy 59	Érdi jubileum	Pándy 279	Csengődi
Sz46	3,40	1,20	7,00	2,40	1,00	4,20	1,00
Sz46	1,60	5,00	1,60	1,90	1,90	2,20	0,90
Sz46	1,90	5,50	1,00	0,90	2,00	2,00	1,40
Sz46	5,50	7,10	10,00	1,00	1,63	3,00	0,90
Sz46	1,20	10,00	9,00	0,80	1,84	2,50	0,70
Sz46	1,50	12,00	10,20	1,20	1,83	2,80	1,00
Sz46	1,50	11,00	11,40	1,00	1,77	2,50	2,00
Sz46	1,20	5,00	1,10	1,31	1,81	2,74	0,80
Sz46	10,00	4,50	6,41	1,16	1,80	2,53	1,09
Sz46	9,00	6,81	6,34	1,05	1,79	2,58	1,10
Sz65	1,00	1,30	1,10	1,30	1,20	1,20	1,10
Sz65	1,00	1,40	0,70	1,70	2,00	1,30	1,20
Sz65	1,00	1,50	0,90	1,00	1,20	1,00	0,90
Sz65	1,50	1,80	0,90	1,00	2,10	1,70	1,00
Sz65	1,60	1,20	1,00	1,00	2,50	2,00	1,00
Sz65	1,20	4,00	1,40	1,10	1,00	1,00	1,30
Sz65	5,20	1,00	1,40	1,10	1,30	1,00	1,80
Sz65	0,80	0,90	0,80	1,00	1,00	1,00	1,50
Sz65	2,40	0,90	1,00	1,10	1,00	0,90	1,30
Sz65	1,74	0,90	1,00	0,80	1,00	0,80	1,00
Sz66	0,90	0,90	1,20	0,90	0,90	0,80	1,00
Sz66	1,60	0,90	1,30	1,00	0,80	0,90	1,40
Sz66	1,50	1,80	2,50	1,10	0,80	1,00	0,80
Sz66	0,90	1,00	0,90	0,90	0,90	1,50	1,00

<b>Sz66</b>	1,00	0,90	0,90	0,90	0,80	0,80	1,00
<b>Sz66</b>	2,70	0,60	1,00	1,20	1,00	0,70	1,00
<b>Sz66</b>	1,00	1,10	1,20	0,70	0,80	1,10	1,10
<b>Sz66</b>	1,00	1,20	1,00	1,00	1,00	1,30	0,80
<b>Sz66</b>	4,10	0,90	0,90	1,00	0,90	1,10	0,90
<b>Sz66</b>	0,30	0,90	0,90	1,50	0,88	1,30	1,10
<b>Sz80</b>	2,50	1,00	1,20	0,80	1,50	1,00	1,10
<b>Sz80</b>	4,20	1,00	2,30	0,80	1,90	1,20	1,00
<b>Sz80</b>	5,50	1,40	8,00	1,10	3,10	1,00	1,20
<b>Sz80</b>	3,00	1,40	7,00	0,90	1,40	1,00	1,00
<b>Sz80</b>	1,20	1,10	0,90	0,90	1,10	1,40	0,90
<b>Sz80</b>	2,20	1,00	8,00	0,90	1,70	1,20	1,00
<b>Sz80</b>	0,90	4,50	0,70	5,50	1,00	1,30	1,00
<b>Sz80</b>	2,20	1,40	4,01	2,00	1,00	1,00	6,80
<b>Sz80</b>	2,71	0,90	4,42	1,61	1,59	1,40	6,90
<b>Sz80</b>	2,74	1,20	4,72	1,71	1,60	1,00	2,32
<b>B6</b>	1,20	1,00	1,60	1,20	2,00	2,00	1,30
<b>B6</b>	1,40	1,60	10,80	0,90	2,00	1,00	9,70
<b>B6</b>	1,50	1,40	1,00	1,00	3,50	13,00	0,90
<b>B6</b>	11,50	2,80	11,50	1,00	2,00	12,50	6,50
<b>B6</b>	1,00	1,20	9,50	0,80	6,50	11,00	1,00
<b>B6</b>	0,90	1,20	10,00	2,00	7,50	10,50	1,00
<b>B6</b>	0,90	1,50	3,00	1,30	8,00	12,00	1,10
<b>B6</b>	4,00	1,40	2,00	0,90	1,70	10,50	1,20
<b>B6</b>	5,50	1,40	4,00	1,00	4,15	15,00	1,00
<b>B6</b>	1,50	3,70	4,50	1,12	4,42	3,00	2,63

12. táblázat: A laboratóriumban végzett mesterséges ágfertőzések adatainak statisztikai elemzése.

Kéttényezős varianciaanalízis ismétlésekkel

VARIANCIANALÍZIS

<i>Tényezők</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-érték</i>	<i>F krit.</i>
Izolátum	397,3189	4	99,32972	23,54012	1,03E-16	2,405077
Meggyfajta	201,9981	5	40,39962	9,574294	2E-08	2,247445
Kölcsönhatás	620,4279	20	31,02139	7,351751	1,76E-16	1,609593
Belül	1139,29	270	4,219593			
Összesen	2359,035	299				

13. táblázat: A 2006 és 2007 években végzett *in vivo* *Monilinia* izolátumokkal végzett mesterséges ágfertőzés által okozott nekrozis mértéke cm-ben a vizsgált hét meggyfajtán.

Meggyfajták/ Kezelések	2006 Sz46 M. laxa	2006 Sz80 M. fructigena	2006 Sz100 M. laxa	2007 Sz80 M. fructigena	2007Sz101 M. laxa	Kontroll
Kántorjánosi 1fa	19,5	0	17,3	2,5	2	0
Kántorjánosi 2fa	17	3	5	2,5	2,5	0
Kántorjánosi 3fa	19,5	2	5	1	3	0
Kántorjánosi 4 a	17,5	1,5	4	2,5	3,2	0
Pándy 279 1fa	3,5	1	16	2,4	4,1	0
Pándy 279 2fa	4	1	4,5	2	2,5	0
Pándy 279 3fa	20	2	4	1,6	2,8	0
Pándy 279 4fa	18	0	17	2	1,8	0
Érdi bőtermő 1fa	4,5	2	18	2	3	0
Érdi bőtermő 2fa	18	1	18	2	4	0
Érdi bőtermő 3fa	17,5	1	5,5	2	3,8	0
Érdi bőtermő 4fa	4	2	3,5	2,8	3,5	0
Cigánymeggy 59 1fa	5,5	1	18,5	1,5	3,1	0
Cigánymeggy 59 2fa	17,5	3	5,5	2	3,7	0
Cigánymeggy 59 3fa	18	1	18	1,6	4	0
Cigánymeggy 59 4fa	4	2	18	2	3,5	0
Csengődi 1fa	5	1	5,5	2	5	0
Csengődi 2fa	18	1,5	6	1,5	3,5	0
Csengődi 3fa	6	1	6	2	2,5	0
Csengődi 4fa	7,5	2	8	2,5	5	0
Újfehértói fürtös 1fa	19,5	3,5	19	1,6	2	0
Újfehértói fürtös 2fa	14	1	17	1,6	3,2	0
Újfehértói fürtös 3fa	5,5	2	6,5	1,8	3	0
Újfehértói fürtös 4fa	18	2	6	2,5	4,5	0
Érdi jubileum 1fa	19	1	18	1,5	4	0
Érdi jubileum 2fa	6	2,5	7	2	1,8	0
Érdi jubileum 3fa	6	2	6,5	2	7,5	0
Érdi jubileum 4fa	18,5	1	6	2,8	3,5	0

14. táblázat: 2006 és 2007 évben alkalmazott *Monilinia fructigena* izolátum (Sz80) által okozott nektrózis adatainak statisztikai elemzése.

Kéttényezős varianciaanalízis ismétlésekkel

VARIANCIAANALÍZIS

Tényezők	SS	df	MS	F	p-érték	F krit.
Fajták	1,231071429	6	0,205179	0,418122	0,862788	2,323993
Évjárat	2,657857143	1	2,657857	5,416303	0,024843	4,07266
Kölcsönhatás	2,134642857	6	0,355774	0,725012	0,63188	2,323993
Belül	20,61	42	0,490714			
Összesen	26,63357143	55				

15. táblázat: 2006 és 2007 évben a fertőzésekhez alkalmazott *Monilinia laxa* izolátumok (Sz100 és Sz101) által okozott nektrózis adatainak statisztikai elemzése.

Kéttényezős varianciaanalízis ismétlésekkel

VARIANCIAANALÍZIS

Tényezők	SS	df	MS	F	p-érték	F krit.
Fajták	98,30464286	6	16,38411	0,810657	0,5676	2,323993
Izolátumok	667,2301786	1	667,2302	33,01339	9,21E-07	4,07266
Kölcsönhatás	104,4960714	6	17,41601	0,861714	0,530749	2,323993
Belül	848,8575	42	20,21089			
Összesen	1718,888393	55				



16. táblázat: A 2006 évben *Monilinia* izolátumokkal történt szabadföldi mesterséges ágfertőzés következtében keletkezett hánccselhalás ép és elhalt rész találkozásánál vett szövetdarab mikroszkópos vizsgálatának fluoreszcencia értékei.

<b>2006</b>	<b>átlag 192-256</b>	<b>szórás 192-256</b>
<b>Érdi bőtermő Sz46</b>	4,156363985	1,87929022
<b>Kántorjánosi Sz46</b>	11,62726952	7,808872465
<b>Újfehértói fürtös Sz46</b>	4,225	0,717006276
<b>Pándy 279 Sz46</b>	3,655132956	1,333937422
<b>Csengődi Sz46</b>	3,58409261	1,679401718
<b>Cigánymeggy 59 Sz46</b>	6,979104967	4,837666845
<b>Érdi jubileum Sz46</b>	5,4925	4,124661885
<b>Érdi bőtermő Sz80</b>	4,807720779	2,546108044
<b>Kántorjánosi Sz80</b>	7,6578125	
<b>Újfehértói fürtös Sz80</b>	9,805243644	7,671654563
<b>Pándy 279 Sz80</b>	6,15631982	4,643315419
<b>Csengődi Sz80</b>	2,716975655	1,730079794
<b>Cigánymeggy 59 Sz80</b>	1,8252	1,745697196
<b>Érdi jubileum Sz80</b>	6,283333333	
<b>Érdi bőtermő Sz100</b>	6,8614	9,474255158
<b>Kántorjánosi Sz100</b>	4,29348366	2,106044833
<b>Újfehértói fürtös Sz100</b>	2,562733333	1,366748034
<b>Pándy 279 Sz100</b>	7,951903749	10,09126215
<b>Csengődi Sz100</b>	3,436792599	1,201484213
<b>Cigánymeggy 59 Sz100</b>	0,957666667	0,930779422
<b>Érdi jubileum Sz100</b>	3,276162001	0,823281801

17. táblázat: A 2007 évben *Monilinia* izolátumokkal történt szabadföldi mesterséges ágfertőzés következtében keletkezett hánccselhalás ép és elhalt szöveti rész találkozásánál vett szövetdarab mikroszkópos vizsgálatának fluoreszcencia értékei.

2007	átlag 192-256	szórás 192-256
Érdi bőtermő Sz80	120,1992695	31,7949961
Kántorjánosi Sz80	114,5669223	24,28608342
Újfehértói fürtös Sz80	282,9668044	139,6137733
Pándy 279 Sz80	142,1399091	43,11399793
Csengődi Sz80	194,4533059	32,96623253
Cigánymeggy 59 Sz80	217,0899062	77,60283139
Érdi jubileum Sz80	190,5486661	64,65081342
Érdi bőtermő Sz101	144,9636575	52,57144716
Kántorjánosi Sz101	137,2560301	19,63852753
Újfehértói fürtös Sz101	256,7527942	83,6190127
Pándy 279 Sz101	152,4702688	93,78572977
Csengődi Sz 101	179,7958592	69,71218577
Cigánymeggy 59 Sz101	137,0711698	27,5892014
Érdi jubileum Sz101	264,5034616	104,3098447

18. táblázat: A 2006 évben végzett mesterséges ágfertőzés következtében bekövetkezett hánccselhalás fluoreszcens értékeinek statisztikai elemzése.

Kéttényezős varianciaanalízis ismétlések nélkül

VARIANCIANALÍZIS

Tényezők	SS	df	MS	F	p-érték	F krit.
Fajták	45,9548739	5	9,190975	1,24204	0,359131	3,325837
Izolátumok	17,5355226	2	8,767761	1,184848	0,345307	4,102816
Hiba	73,9990309	10	7,399903			
Összesen	137,489427	17				

19. táblázat: A 2007 évben végzett mesterséges ágfertőzés következtében bekövetkezett háncselhalás fluoreszcens értékeinek statisztikai elemzése.

Kéttényezős varianciaanalízis ismétlések nélkül

VARIANCIANALÍZIS

Tényezők	SS	df	MS	F	p-érték	F krit.
Fajták	27773,34851	5	5554,67	4,156579	0,072	5,050339
Izolátumok	16,13776003	1	16,13776	0,012076	0,916771	6,607877
Hiba	6681,78073	5	1336,356			
Összesen	34471,267	11				

20. táblázat: A *Clonostachys rosea* antagonista alkalmazása hét hazai meggyfajta moniliniás bibeelhalása ellen az egyes kezelések és az eltelt napok tükrében.

Meggyfajták / Kezelések	Cr	M	Cr + M	Cr 24h M	Cr 48h M
Érdi bőtermő 1nap	0,5	1	1	0	0,5
Érdi bőtermő 2nap	0,5	1	1	0,5	0,5
Érdi bőtermő 3nap	1,5	1,5	1	1,25	1
Pándy 1nap	0	0,5	0,5	0,25	0
Pándy 2nap	0,75	1	0,75	0,25	0,5
Pándy 3nap	2,5	2	1,5	2,75	2
Kántorjános 1nap	0	0,5	0,5	0	0
Kántorjános 2nap	0	1	1,25	1	0
Kántorjános 3nap	3	1,75	1,25	2	2,5
Újfehértói fürtös 1nap	0	1	1,25	0	0
Újfehértói fürtös 2nap	0,25	2	1,5	1	0
Újfehértói fürtös 3nap	2,25	2,5	2,25	2	2
Cigánymeggy 1nap	0	0,75	1,75	0	0
Cigánymeggy 2nap	0,25	1,25	1,75	1,25	1,5
Cigánymeggy 3nap	2,75	3	2,25	1,5	3
Csengődi 1nap	0	2	1,5	0	0
Csengődi 2nap	0,75	2,25	2	2	2,75
Csengődi 3nap	2,75	2,5	2,5	2,5	3,75
Érdi jubileum 1nap	0,5	0,75	0,75	0	0,25
Érdi jubileum 2nap	2	1,75	1,75	2	2,5
Érdi jubileum 3nap	3	3,25	2,75	3	3,25

21. táblázat: A *Clonostachys rosea* antagonista hatékonyságának statisztikai elemzése *M. laxa* kórokozó ellen 7 meggyfajta bibéjén. Kéttényezős varianciaanalízis ismétlésekkel:

VARIANCIANALÍZIS

Tényezők	SS	df	MS	F	p-érték	F krit.
Fajták	328,5	20	16,425	64,27174	2,01E-98	1,604002
Izolátumok	15,58095	4	3,895238	15,24224	2,1E-11	2,400311
Kölcsönhatás	81,61905	80	1,020238	3,992236	9,65E-19	1,320365
Belül	80,5	315	0,255556			
Összesen	506,2	419				

22. táblázat: *Clonostachys rosea* antagonistával, valamint meggyről (Sz2) és almáról (Sz8) származó monilínia izolátummal fertőzött alma, valamint a Kontroll alma elhalásának értékei (h=hosszúság, sz=szélesség, T=terület)

	Sz2sz	Sz2h	Sz2T	Sz8sz	Sz8h	Sz8T
<b>M (egyedül)</b>	8,3	8,7	56,7136	8,2	9,2	59,25044
<b>Cr azonos időben M</b>	3,2	4,5	11,30973	8,2	9,1	58,60641
<b>Cr 24h M előtt</b>	0	0	0	4,1	4,2	13,52456
<b>Cr 48h M előtt</b>	0	0	0	0	0	0

23. táblázat: *Clonostachys rosea* antagonistával, valamint almáról (Sz35) és manduláról (Sz46) származó monilínia izolátummal fertőzött alma elhalásának értékei (h=hosszúság, sz=szélesség, T=terület)

	Sz35sz	Sz35h	Sz35T	Sz46sz	Sz46h	Sz46T
<b>M (egyedül)</b>	8,2	8,6	55,38628	5,5	6,7	28,94192
<b>Cr azonos időben M</b>	4,8	4,3	16,21062	5,2	5,7	23,2792
<b>Cr 24h M előtt</b>	0	0	0	4,5	4,7	16,61117
<b>Cr 48h M előtt</b>	0	0	0	0	0	0

24. táblázat: A *Clonostachys rosea* antagonista hatékonyságának statisztikai elemzése *Monilinia laxa* és *Monilinia fructigena* kórokozókkal szemben alma gyümölcsön.

Kéttényezős varianciaanalízis ismétlések nélkül:

VARIANCIANALÍZIS

Tényezők	SS	df	MS	F	p-érték	F krit.
Kezelések	4092,378503	3	1364,12617	5,273731316	0,011037	3,287382108
Izolátumok	3433,101889	5	686,620378	2,654484222	0,065287	2,901294536
Hiba	3879,964922	15	258,664328			
Összesen	11405,44532	23				

25. táblázat: A fungicid érzékenységi vizsgálatnál a teljes gátláshoz szükséges (MIC) legkisebb koncentráció az adott fungicid átlagában a vizsgált *Monilinia* izolátumoként (ppm).

ppm	0-50							50 - 500		200 - 1500
	kaptán	vinklozolin	procimidon	benomil	triadimefon	iprodion	fenarimol	boscalid	pirimetanil	réz
Sz1	10,0000	1,3646	8,2000	20,28843	12,7391	5,5493	5,1730	430,0000	444,8000	1021,2277
Sz2	48,3436	6,9089	7,5474	26,13604	11,1053	5,3621	5,1808	103,9076	238,0000	599,1753
Sz3	32,5689	2,3768	6,5932	21,93518	10,3125	5,1089	5,2134	50,0000	52,0870	587,3621
Sz5	49,9800	0,7531	8,3061	26,06667	10,4254	5,6453	5,3123	56,0000	76,2536	695,7812
Sz6	20,4639	4,4148	5,4009	20,17403	10,4813	5,6000	5,1657	243,2394	105,6534	801,4838
Sz7	20,8978	12,8237	5,7576	19,68245	10,2420	5,2609	5,0550	115,8824	54,7800	211,4045
Sz8	20,6207	3,4942	5,3333	21,16458	10,4845	6,5559	5,1089	111,3668	63,1600	216,8159
Sz9	21,0230	4,5192	7,8000	23,90151	13,2941	6,4028	5,2107	94,4595	87,5689	582,6630
Sz10	22,3762	5,4302	12,3333	22,15694	11,6817	6,0000	5,2883	94,8752	93,2256	577,4194
Sz13	45,7143	2,3673	7,2857	24,91919	10,2469	5,5294	5,1486	97,3275	117,8889	568,7805
Sz19	33,4383	0,6273	11,3243	24,27685	11,3116	6,2776	5,2809	153,6865	53,9298	1441,1268
Sz20	20,1196	5,6621	6,0667	19,52728	10,2979	5,2055	5,1979	139,2563	98,7632	791,4286
Sz22	30,3704	0,4574	10,2000	22,38677	10,8235	5,4892	5,1451	125,4756	135,8261	260,0000
Sz23	21,0283	2,5132	12,5789	20,62395	10,8505	5,5678	5,1647	90,8696	261,5000	230,0000
Sz27	20,1554	5,5307	13,0000	19,40938	10,1906	5,1877	5,2205	130,7517	291,9802	341,4795
Sz28	21,7895	1,8308	9,6667	20,22005	10,0000	5,8622	5,2105	79,3966	80,7016	812,2535
Sz30	21,2195	1,3919	15,0000	20,93623	10,3287	6,3636	5,3038	145,3623	122,0000	371,1250
Sz31	20,3339	1,3007	8,5410	19,6438	10,2732	5,3038	5,2133	68,9403	353,0000	849,4400
Sz32	29,3103	0,9354	6,5556	22,29247	10,7926	5,6378	5,3006	188,6933	182,0759	387,3469
Sz33	27,3568	1,6888	6,1658	21,74786	10,6854	5,5911	5,2667	186,5541	153,4231	1343,5294
Sz34	20,1054	1,3716	8,2500	20,17703	10,4226	5,7333	5,2080	132,9412	126,0789	495,3125
Sz40	20,0933	1,0007	5,3077	20,82959	10,6311	6,1798	5,2635	84,0484	67,8947	635,2727
Sz41	20,0898	9,0721	22,6842	21,47104	12,0105	5,4426	5,1864	135,2446	98,3581	527,0180
Sz42	25,9535	0,8921	11,6667	21,99356	10,5912	6,2117	5,4138	284,1637	500,0000	417,2414
Sz47	23,4489	0,4887	10,5216	20,12659	10,0000	5,4368	5,3488	121,9688	145,9859	310,9758
Sz54	20,1554	0,9966	6,1200	19,83223	10,2528	5,5483	5,4410	147,6154	269,8154	279,1426
Sz55	20,1438	2,0989	12,3333	20,05635	10,6210	5,4066	5,5010	142,0280	74,5217	217,3236
Sz71	20,2931	0,3200	7,9864	20,33502	11,0889	5,1875	5,1509	74,8086	220,9091	861,2978
Sz78	47,9412	0,7526	6,8462	25,7601	10,5993	5,5725	5,2081	108,4206	79,0798	230,6383
Sz81	20,1730	0,8488	5,4444	19,49896	10,2977	5,1667	5,2159	164,8640	87,9032	280,4946
Sz83	20,2762	9,0721	15,0000	19,39668	10,2177	5,1237	5,1592	184,7925	199,8551	241,6659
Sz87	0,1709	4,5192	10,5385	15,53686	10,1638	5,3389	5,1116	182,0759	311,7045	235,1220
Sz89	29,6896	5,3409	5,9545	21,50774	10,2134	5,3564	5,1223	78,4104	100,3226	214,5525
Sz90	21,6129	3,8226	7,2105	19,76579	10,1697	5,2735	5,1667	169,7534	65,0369	664,9235
B1	20,0952	0,8987	8,1429	19,86354	10,5005	5,3439	5,3727	115,3415	366,9637	474,2857
B3	24,7368	3,5256	16,0000	21,06703	10,4054	5,7143	5,2171	151,9941	117,7004	206,2872
B5	26,5687	2,5132	13,7952	22,26718	10,5986	6,3548	5,1737	131,1387	117,1770	247,3684
B12	28,3732	2,5132	37,0000	21,73221	10,8519	5,2057	5,1124	296,4964	110,6993	206,8515
B20	20,0952	0,7505	11,0000	19,49794	10,2410	5,2379	5,1064	181,2759	167,6222	205,7880
B28a	20,2024	2,1967	7,8286	21,43393	11,8094	5,5841	5,5005	158,3938	473,0000	463,0769
B28b	21,1737	2,3673	9,0000	21,2354	11,5680	5,4327	5,4061	146,2927	187,6378	460,8696
B32	20,2980	9,0721	8,2941	23,64943	14,2346	5,3553	5,7784	56,8652	69,4595	749,6104
átlag	24,4953	3,1149	10,0138	21,2982	10,8109	5,5883	5,2458	141,7852	167,2463	507,4991
szórás	9,4621	2,8724	5,5770	2,0771	0,8917	0,3931	0,1360	71,1597	119,3946	302,8076

26. táblázat: A vizsgált *Monilinia laxa* és *Monilinia fructigena* izolátumok fungicid érzékenységének relatív különbsége. HS -magas érzékenységű csoport, melyeknek a teljes gátlás eléréséhez alacsonyabb koncentráció elégséges. MS - közepes érzékenységű izolátumok. LS - alacsony érzékenységű izolátumok, azaz magasabb hatóanyag koncentráció szükséges a teljes gátláshoz.

	HS		MS		LS
Sz8 <i>M. fructigena</i>	6,735	Sz7 <i>M. fructigena</i>	10,125	SZ 32 M laxa	20,114
B20 <i>M. fructigena</i>	7,6293	B3 <i>M. laxa</i>	11,502	SZ 28 M laxa	20,159
Sz47 <i>M. laxa</i>	8,7861	Sz55 <i>M. laxa</i>	12,068	SZ 31 M fructigena	21,976
Sz81 <i>M. fructigena</i>	9,6458	Sz23 <i>M. laxa</i>	12,568	B 28a M fructigena	22,533
Sz89 <i>M. fructigena</i>	9,6621	Sz30 <i>M. laxa</i>	12,632	SZ 13 M laxa	22,73
Sz78 <i>M. fructigena</i>	9,7205	B5 <i>M. laxa</i>	12,841	SZ 90 M fructigena	23,472
		Sz22 <i>M. laxa</i>	13,37	SZ 6 M laxa	23,599
		Sz40 <i>M. laxa</i>	13,888	SZ 2 M laxa	25,259
		B28b <i>M. fructigena</i>	14,122	SZ 19 M laxa	26,108
		Sz83 <i>M. fructigena</i>	14,678	SZ 20 M laxa	26,65
		B12 <i>M. laxa</i>	16,103	SZ 71 M fructigena	27,644
		Sz54 <i>M. laxa</i>	17,064	SZ 33 M laxa	31,491
		Sz3 <i>M. laxa</i>	17,214	SZ 1 M laxa	38,073
		Sz42 <i>M. laxa</i>	17,486		
		Sz10 <i>M. laxa</i>	17,598		
		Sz41 <i>M. laxa</i>	17,735		
		B1 <i>M. laxa</i>	18,221		
		Sz87 <i>M. fructigena</i>	18,836		
		Sz9 <i>M. laxa</i>	18,847		
		Sz27 <i>M. laxa</i>	18,86		
		Sz5 <i>M. laxa</i>	19,293		
		Sz34 <i>M. laxa</i>	19,838		
		B32 <i>M. laxa</i>	19,941		

# KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném megköszönni témavezetőmnek Dr. Turóczi Györgynek, hogy ennek a nem mindennapi témának a kutatási lehetőségét nekem ajánlotta fel, munkámat koordinálta és a vizsgálatokhoz szükséges háttérrel biztosította.

Köszönöm továbbá Dr. Kiss József Professzor Úrnak, hogy a Szent István Egyetem Növényvédelmi Intézetében végezhettem a doktori munkámat, és hogy sok évvel ezelőtt mikor bekapogtattam az ajtaján, hogy növényvédelmet szeretnék tanulni, készséggel fogadott.

Köszönöm Dr. Virányi Ferenc Professzor Úrnak, hogy munkám során bármikor fordulhattam hozzá, mindig szívesen fogadott és lelkesedéséből sokat meríthettem.

Nagyon hálás vagyok Dr. Rozsnyay Zsuzsannának, az Érdi Gyümölcs - és Dísznövény Kutató - Fejlesztő Kht. munkatársának, hogy a fajta rezisztencia vizsgálatok beállításának helyét biztosított, munkámat felügyelte, és a kiértékelésben nélkülözhetetlen szakmai segítséget nyújtott.

Szeretném megköszönni Dr. Komjáti Hedvignek, hogy bevezetett a molekuláris genetikai "sötét és rejtett bugyraiba" és rávilágított annak szépségére. Továbbá, hogy végig tartotta bennem a lelket, és kellő intenzitással noszogattott a dolgozat elkészítéséhez.

Köszönöm továbbá Dr. Bakonyi József professzor úrnak, hogy segített a genetikai változékonyság kielemezésében.

Köszönettel tartozom továbbá Rózsa Eszter, Major Gergely és Tóth Béla végzős hallgatóimnak, akik a diplomamunkájuk elkészítésével előrébb vitték az én kutatási munkámat is.

Szeretném megköszönni a Növényvédelmi Intézet valamennyi dolgozójának, hogy mindig számíthattam rájuk, különösen Szócs Tündér Ilonának, aki a laboratóriumi kísérletek beállításához megfelelő környezetet alakított ki.

Szeretnék köszönetet mondani Tóthné Lippai Editnek (korábban: MgSzH Központ Növény-, Talaj- és Agrárkörnyezetvédelmi Igazgatóság), hogy engedélyezte a *Monilinia fructicola* izolátummal történő kísérleteket, valamint Dormannsné Simon Erzsébet mikológusnak (korábban: Csongrád Megyei MgSzH Biológiai védekezési és karantén fejlesztési laboratórium), az izolátumok fenntartásáért és rendelkezésemre bocsájtásáért.

A manduláról származó izolátumokért Vajna László Professzor Úrnak mondok köszönetet.

A 2006 és 2007 évi meteorológiai adatokat Makay Miklós gyűjtötte és bocsájtotta rendelkezésemre, melyet ezúton is nagyon köszönök.

Végül de nem utolsó sorban szeretném megköszönni Családomnak, különösen Szüleimnek hogy biztosították számomra mind erkölcsileg, mind anyagilag a háttérrel a tanuláshoz, a kutató munkába való betekintéshez. Továbbá kislányomnak Zsófiának a sok türelmet, és a nyugodt éjszakákat.