

DEBRECENI EGYETEM
KERPELY KÁLMÁN DOKTORI ISKOLA

Doktori iskola vezető:

Prof. dr. Nagy János
az MTA doktora

Témavezető:

Dr. Karaffa Erzsébet Mónika, PhD

**A SZŐLŐ TŐKEELHALÁSÁBAN SZEREPET JÁTSZÓ
GOMBAFAJOK ÉS A BETEGSÉG ELLENI POTENCIÁLIS
BIOLÓGIAI VÉDEKEZÉSI LEHETŐSÉGEK VIZSGÁLATA A
TOKAJI BORVIDÉKEN**

Készítette:

Kovács Csilla
doktorjelölt

Debrecen

2017

**A SZŐLŐ TŐKEELHALÁSÁBAN SZEREPET JÁTSZÓ
GOMBAFAJOK ÉS A BETEGSÉG ELLENI POTENCIÁLIS
BIOLÓGIAI VÉDEKEZÉSI LEHETŐSÉGEK VIZSGÁLATA A
TOKAJI BORVIDÉKEN**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a Növénytermesztési és kertészeti tudományágban

Írta: Kovács Csilla okleveles Élelmiszerbiztonsági és -minőségi mérnök

Készült a Debreceni Egyetem Kerpely Kálmán Növénytermesztési és Kertészeti
Tudományok Doktori Iskolája
(Növénytermesztési-és kertészeti tudományok programja) keretében

Témavezető: Dr. Karaffa Erzsébet Mónika, egyetemi docens

A doktori szigorlati bizottság:

	név	fokozat
elnök:	Dr. Fekete Erzsébet	egyetemi docens, PhD
tagok:	Dr. Kredics László	egyetemi docens, PhD
	Dr. Borbély Jánosné	nyugalmazott egyetemi docens, PhD

A doktori szigorlat időpontja: 2017. március 27.

Az értekezés bírálói:

név	fokozat	aláírás
Prof Dr. Holb Imre	DSc.	
Prof. Dr. Kocsis László	DSc.	

A bírálóbizottság:

	név	fokozat	aláírás
elnök:			
tagok:			
titkár:			

Az értekezés védésének időpontja: 20...

Tartalomjegyzék

1	BEVEZETÉS	6
2	IRODALMI ÁTTEKINTÉS	9
2.1	Esca betegségcsoport	9
2.1.1	<i>A betegség kialakulásában szerepet játszó abiotikus és biotikus tényezők ..</i>	16
2.2	Eutípás rák és elhalás	17
2.3	<i>Botryosphaeria</i> fajok okozta elhalás.....	20
2.4	Feketeláb betegség.....	26
2.5	<i>Phomopsis</i> fajok okozta elhalás.....	28
2.6	A tőkeelhalás elleni védekezési lehetőségek.....	30
2.7	A tőkebetegségben szerepet játszó általunk is kimutatott kórokozók taxonómiai bemutatása	33
2.7.1	<i>Diplodia mutila</i>	33
2.7.2	<i>Diplodia seriata</i>	34
2.7.3	<i>Diaporthe</i> sp.	35
2.8	Endofita fajok jelenléte a tünetes növényekben	36
3	ANYAG ÉS MÓDSZER.....	38
3.1	Mintagyűjtés helye	38
3.2	A betegség kimutatási gyakorisága (DI%) és a mintagyűjtés időpontja ...	41
3.3	GTD kórokozók és endofiták izolálása a fás szövetből	42
3.4	Morfológiai és molekuláris biológiai vizsgálatok	43
3.5	Statisztikai értékelés.....	45
3.6	<i>Trichoderma</i> fajok micéliális növekedése	46
3.7	A különböző <i>Trichoderma</i> izolátumok kompetíciós képességének vizsgálata	47
3.8	<i>Trichoderma</i> spórakészítmény	47
4	EREDMÉNYEK.....	48

4.1	A tőkeelhalás jelenlétének alakulása az egyes dűlőkön 2013 és 2015 között	48
4.2	GTD tünetek megjelenésének stabilitása a vizsgált dűlőkön 2013 és 2015 között	50
4.3	A betegség megjelenési gyakoriságának (DI érték) összefüggése a vizsgált évek, eltérő kor, fajta, talaj és topológia esetén	52
4.3.1	<i>DI érték vizsgálata 2013 és 2015 között az egyes dűlőkön</i>	52
4.3.2	<i>Az ültetvény kora és a DI érték közötti összefüggés vizsgálata</i>	55
4.3.3	<i>Eltérő fajták és a DI értékek összefüggésének alakulása az egyes vizsgált ültetvényekben</i>	56
4.3.4	<i>Szőlőültetvények eltérő talaj szerinti összehasonlítása a DI értékkel</i>	57
4.3.5	<i>Vizsgált dűlők elhelyezkedésének és a DI értékének összefüggés vizsgálata</i>	58
4.4	A betegség gyakoriságának (DI érték) összefüggése az időjárási viszonyokkal	60
4.5	GTD patogének és endofita gombák előfordulásának gyakorisága eltérő korú ültetvényeken 2013 és 2015 között	63
4.5.1	<i>Diplodia seriata és Diaporthe sp. izolációs gyakorisága és párhuzamos előfordulásuk a tünetes növényeken a vizsgált ültetvényekben (2013-2015)</i>	65
4.5.2	<i>Endofita fajok izolációs gyakorisága a vizsgált ültetvényekben (2013-2015)</i>	65
4.6	A <i>Diplodia seriata</i> és a <i>Diaporthe</i> sp. fertőzési arányának (IR%) alakulása 2015-ben a vizsgált ültetvényekben	67
4.7	A <i>Diplodia mutila</i> megjelenése és az általa okozott tünet a Bakonyi (4F) dűlőben 2013-ban	68
4.8	Morfológiai vizsgálatok	69
4.8.1	<i>GTD patogének morfológiája</i>	69
4.8.1.1	<i>Diplodia mutila morfológiája</i>	69
4.8.1.2	<i>Diaporthe eres morfológiája</i>	70

4.8.1.3	<i>Diplodia seriata</i> morfológiája.....	71
4.8.2	<i>Leggyakrabban izolált endofita fajok morfológiája</i>	72
4.8.2.1	<i>Alternaria</i> sp. morfológiája.....	72
4.8.2.2	<i>Epicoccum</i> sp. morfológiája.....	72
4.8.2.3	<i>Fusarium</i> sp. morfológiája.....	73
4.8.2.4	<i>Trichoderma</i> sp. morfológiája.....	74
4.9	Molekuláris vizsgálatok	75
4.9.1	<i>Genomi DNS izolálása</i>	75
4.9.2	<i>Izolátumok ITS amplifikációja PCR reakcióval</i>	75
4.9.3	<i>A szőlőtőkéből izolált endofita és GTD patogén gombák filogenetikai elemzése Maximum Likelihood (ML) analízissel</i>	76
4.9.3.1	<i>A Diplodia mutila izolátumok filogenetikai elemzése ITS szekvencia alapján</i>	76
4.9.3.2	<i>Trichoderma izolátumok filogenetikai elemzése tef1 szekvenciái alapján</i>	77
4.9.3.3	<i>Trichoderma harzianum izolátumok filogenetikai elemzése tef1 és a kitináz termelésért felelős chi18-5 szekvenciái alapján</i>	78
4.9.4	<i>Izolált GTD patogének és endofita gombafajok deponálása</i>	79
4.9.4.1	<i>Deponált GTD kórokozók</i>	79
4.9.4.2	<i>Deponált endofita fajok</i>	80
4.10	A tőkeelhalás elleni potenciális védekezési lehetőségek kialakítása	80
4.10.1	<i>Endofita Trichoderma izolátumok micéliális növekedése</i>	81
4.10.2	<i>Trichoderma izolátumok mikoparazita képességének vizsgálata</i>	84
4.10.3	<i>Trichoderma spórákészítmény alkalmazása szabadföldi kísérletben</i>	86
5	KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	88
6	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	91
7	GYAKORLATBAN ALKALMAZHATÓ EREDMÉNYEK	93
8	ÖSSZEFOGLALÁS	95

9 SUMMARY	99
10 IRODALOMJEGYZÉK	103
11 PUBLIKÁCIÓK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN	134
12 MELLÉKLETEK.....	142
1. melléklet: A DNS kinyerése NucleoSpin® Plant II (MACHEREY-NAGEL) protokoll alapján.....	142
2. melléklet: A PCR termék tisztítása NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up (Macherey-Nagel) segítségével.....	143
3. melléklet: Az általunk deponált törzsek ITS nyilvántartási számai (Accession Numbers) a GenBank adatbázisában (http://www.ncbi.nlm.nih.gov)	144
4. melléklet: Az izolált endofita fajok gyakorisága az összes vizsgált területen 2013 és 2015 között.....	146
13 NYILATKOZATOK	147
KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS	148

1 BEVEZETÉS

A szőlő (*Vitis vinifera* L.) korai, fertőző okokra visszavezethető megbetegedése (Grapevine Trunk Diseases-GTD) a szőlőültetvények egyik legsúlyosabb betegsége világszerte, mely jelentős termésvesztést és gazdasági károkat idéz elő a borászati ágazat számára (Rego et al., 2000; Bertsch et al., 2009; Úrbez-Torres et al., 2009; Abreo et al., 2011; Yan et al., 2011a, b; Chebil et al., 2012; Diaz et al., 2012; Bertsch et al., 2013; Correia et al., 2013; Kaliternam-Milicevic, 2013; Mohammadi et al., 2013; Mondello et al., 2013; Ammad et al., 2014). A filoxéra európai megjelenéséhez hasonlóan súlyos és veszélyes betegségként emlegeti egyre több szakember. Magyarországon 80180 hektár területen termesztnek szőlőt (KSH 2015). Bihari et al. (2016) a Tokaji Borvidéken végzett elemzéseik alapján, a tőkeelhalás aggasztó mértékű növekedését állapították meg. Felmérésük alapján a GTD tünetet mutató tőkék aránya a 2014-es 1,3%-ról 2016-ra 5,8%-ra emelkedett a borvidéken.

A tőkeelhalást először egy ismeretlen szerző írta le „sunstroke”, azaz napszúrás néven 1895-ben Kaliforniában. Franciaországban 1898-ban Ravaz azonosította a betegséget, melyet „folletage”-ként emlegetett. Chiarappa (2000) a betegséget a *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers. (1800) (elsőként leírt név: *Thelephora hirsuta* Willd. (1787) és a *Phellinus igniarius* (L.) Quél. (1886) (elsőként leírt név: *Boletus igniarius* (L.) (1753) (syn.: *Fomes igniarius* (L.) Fr. (1849)) fajok jelenlétével hozta összefüggésbe.

A betegséggel kapcsolatban jelentősebb kutatások az 1950-es évektől kezdődtek. Hewitt (1957) kutatásokkal igazolta, hogy a beteg tőkék nem minden évben mutatják a vegetatív szerveken is jól megfigyelhető specifikus tüneteket. Chiarappa (1959) fertőzött növényi szövetből mintagyűjtést követően lehetséges kórokozóként a *Cephalosporium* és a *P. igniarius* (L.) Quél. (1886) (elsőként írta név: *B. igniarius* (L.) (1753), (syn.: *Fomitiporia mediterranea* M. Fischer (Fischer, 2002) fajokat identifika. A fás betegségek közül az esca betegségtípus kutatása Larignon és Dubos (1987) kutatásaival folytatódott. Arra keresték a választ, hogy az ivartalanul szaporodó (mitospórás) gombák egyedül vagy bazídiumos gombák segítségével vesznek részt a betegség kialakításában.

Az 1990-es években a betegség drasztikus növekedését figyelték meg azokban az országokban (Németország, Görögország és Olaszország), ahol korábban arzenitet alkalmaztak a betegség visszaszorítása érdekében (Mugnai et al., 1999). Rövid ideig Franciaországban, Portugáliában és Spanyolországban korlátozottan még alkalmazták a

nátrium-arzenitet, azonban az esca terjedése továbbra is kimutatható volt a bortermelő régiókban (Mugnai et al., 1999).

A betegség növekedése a 2000-es évek elején hatalmas méretet öltött, megjelenési formája és típusa azonban borvidékenként eltérő volt (Chiarappa, 2000; Grosman, 2005; Graniti, 2006).

A megbetegedést többféle kórokozó is okozhatja. *Ascomycota* fajok közül leggyakrabban emlegetett fajok: *Phaeoacremonium aleophilum*, *Phaeomoniella chlamydospora* és más *Phaeoacremonium* sp., *Eutypa lata*, *Diplodia seriata*, *Phomopsis viticola*, Basidiomycoták közül leggyakrabban *F. mediterranea* szerepel a leírásokban (Kuntzmann et al., 2010; Kotze et al., 2011; Bertsch et al., 2013; Úrbez-Torres et al., 2014).

A betegség kialakulását egyéb tényezők is befolyásolhatják. Abiotikus okok közül az egyenlőtlen csapadékeloszlást, illetve a mikroklimatikus viszonyok szerepét bizonyították (Mugnai et al., 1999; Graniti et al., 2006; Surico et al., 2006; Sosnowski et al., 2007; Bertsch et al., 2009; Gramaje és Armengol, 2011; Van Niekerk et al., 2011; Bertsch et al., 2013). Biotikus okok közül a szőlőfajta, illetve az alany típusa is befolyásolhatja a tünetek megjelenését és a betegség súlyosságát.

A szőlő leggyakoribb tökebetegségei közé sorolják az esca betegség komplexet, a Petri betegséget, az *Eutypa*-, a *Botryosphaeria* és a *Phomopsis* fajok okozta elhalásokat, a fekete kordonkar elhalást (BDA) és a fekete láb betegséget („black foot”) (Bulit et al., 1972; Lehoczky, 1974; Moller és Kasimatis, 1978; Larignon és Dubos, 1997; Pascoe, 1998; Mugnai et al., 1999; Larignon et al., 2001a; Rolshausen et al. 2005; Phillips et al., 2005; Halleen et al., 2006; Úrbez-Torres et al., 2006a; Úrbez-Torres et al., 2009; Varga, 2009; Kotze et al., 2011; Úrbez-Torres és Gubler, 2011b; Úrbez-Torres, 2011a; Hofstetter et al., 2012; Bertsch et al., 2013; Úrbez-Torres et al., 2013; 2014; Fontaine et al., 2015).

Larignon et al. (2000) szerint Franciaországban, a 90-es években a fenti fás betegségek közül az esca volt a legjelentősebb az eutípás elhalással szemben. 2000-ben több francia borrégióban, köztük Champagne-ban azonban a fekete kordonkar elhalás új betegségként jelentkezett (Larignon et al., 2000; Larignon és Dubos, 2001b). 2003-ban már a legtöbb francia bortermelő területen felismerték az esca és a BDA jelentőségét (Grosman, 2005; Fotre-Muller, 2006).

A védekezést nehezíti, hogy nem ismerünk a betegséggel szemben ellenálló szőlőfajtát (Romanazzi et al., 2009; Andreini et al., 2013; Murolo és Romanazzi, 2014), vagy hatásosan alkalmazható növényvédőszert. A védekezés így jelenleg jórészt csak a

megelőzésre (egészséges szaporítóanyag, metszési sebeken keresztüli fertőzés megakadályozása) korlátozódik.

A tőkeelhalásban szerepet játszó gombafajok és a betegség elleni potenciális biológiai védekezési lehetőségek vizsgálatával kapcsolatos kutatómunkámat a következő célkitűzésekkel állítottam össze:

1. A tőkeelhalás betegség típus helyzetének felmérése a Tokaji Borvidéken
2. A biotikus és abiotikus tényezők, valamint a betegség megjelenési gyakorisága (DI%) közötti összefüggések vizsgálata
3. Tünetes tőkékben kimutatható kórokozók és endofiták morfológiai és genetikai alapon történő azonosítása különböző fenotípusos és molekuláris markerek, valamint filogenetikai vizsgálatok segítségével
4. Hatékony biokontroll törzsek izolálása és potenciális alkalmazhatóságuk vizsgálata GTD kórokozókkal szemben

2 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A szőlő leggyakoribb fás betegségei az esca betegség komplex, a Petri betegség, az *Eutypa*-, a *Botryosphaeria*, a *Phomopsis* fajok okozta elhalások, a fekete kordonkar elhalás (BDA) és a fekete láb betegség („black foot”).

2.1 Esca betegségcsoport

Az esca világszerte elterjedt fás betegség. Az esca-szerű tünetekre való hivatkozások már az ókori görög és latin kultúrákban is megjelentek, majd ezt követően a középkorban is voltak feljegyzések. Az escáról a XII. század végén Ibn al-Awwam írt a „Kitab al-Felahah” mezőgazdasági szakkönyvben, valamint Pietro de’ Crescenzi az „Opus Ruralium Commodorum”-ban (Mugnai et al., 1999).

Az esca latin eredetű elnevezés, mely táplálékot, élelmiszert jelent, de a betegség megnevezése inkább a görög (eszkhatosz: legutolsó, végső / betegségállapot) eredeten alapul (Mugnai et al., 1999; Kövics, 2009).

A betegség kutatása a XIX. század végén kezdődött Ravaz (1898) és Viala (1926) munkásságával.

Az esca betegségcsoport kialakulásában részt vevő főbb kórokozók a *P. aleophilum* (Crous et al., 1996) (syn.: *Calosphaeria minima* Tul. & C. Tul., (1863), a *Togninia minima* Tul. & C. Tul. Berl., (1900) (syn: *Phaeoacremonium minimum*), *Erostella minima* Tul. & C. Tul. (1906), *Pleurostoma minimum* Tul. & C. Tul. M.E. Barr, J.D. Rogers & Y.M. Ju (1993), *Longoa paniculata* Curzi (1927), a *P. chlamydospora* Crous & W. Gams (2000) (elsőként leírt név: *Phaeoacremonium clamydosporum*), valamint a különböző *Phaeoacremonium* sp. W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & Mugnai (Scheck et al., 1998b; Mugnai et al., 1999; Dupont et al., 2000).

A *Phaeoacremonium* és a *Phaeomoniella* fajok jelenlétét először a 90-es években írták le (Luque et al., 2009). A betegség kialakításában részt vehetnek még *Basidiomycetes* fajok is, melyek közül a legelterjedtebb a *F. mediterranea* (syn: *Phellinus punctatus* és *Fomitiporia punctata* M. Fischer (2002) (elsőként leírt név: *Poria punctata* P. Karst. (1882). Az említett fajok a tőkében fehér korhadást okoznak (Mugnai et al., 1999; Fischer, 2006; Kuntzmann et al., 2010; Mikulás, 2014). A betegséggel kapcsolatban Essakhi et al. (2008) a Tokaj-Hegyaljáról egy új *Phaeoacremonium* fajt izoláltak, melyet *Phaeoacremonium hungaricum* néven írtak le.

Ezek a potenciális kórokozók különböző fitotoxikus tulajdonsággal rendelkező metabolitokat termelnek (Evidente et al., 2000; Tabacchi et al., 2000; Sparapano et al., 2000; Luini et al., 2010). Bruno és Sparapova (2006; 2007) munkáikban esca fertőzött növény xylem nedvében *P. chlamydospora* és *P. aleophilum* által termelt toxinokat mutattak ki. Andolfi et al. (2009) kutatásaik során pedig tünetes növény leveleiben tapasztalták a toxinok jelenlétét. A rothasztó gombák által termelt fitotoxikus vegyületek a xylembe nedvkeringéssel szállítódnak. Ezek a vegyületek okozzák a levéltüneteket, azonban a gombákat a levélből nem sikerült izolálni (Marchi et al., 2006).

A *Phaeoacremonium* és a *Phaeomoniella* fajok mellett azonban a *Botryosphaeria obtusa* Schwein (Shoemaker, 1964; Lehoczky, 1974; Cristinzio, 1978) (anamorf: *D. seriata* de Not.) és más *Botryosphaeria* fajok (Bertsch et al., 2013), valamint *Cylindrocarpon* sp. (jelenlegi név: *Ilyonectria* sp.), *Campylocarpon* spp. is részt vehetnek a kórkép kialakításában (Halleen et al., 2006). Az említett kórokozókon kívül a *S. hirsutum* fajok is előfordulhatnak (Larignon és Dubos, 1997; Mugnai et al., 1999; Armengol, 2001; Rumbos és Rumbou, 2001; Fischer és Kassemeyer, 2003; Surico et al., 2006). Magyarországon Ubrizsy (1965) említette először a *S. hirsutum* és a *P. igniarius* szerepét a betegség kialakításában.

Az említett kórokozók különböző nektrózisokat okozhatnak a szőlőben: központi elhalást, fekete, pontszerű, szektorális nektrózist vagy lágy rothadást is, melyet „Amadou”-nak is neveznek (Maher et al., 2012). Ezt a rothadást a *P. igniarius* (L.) Quél. (1886) (elsőként leírt név: *B. igniarius* (L.) (1753) (syn.: *F. igniarius* (L.) Fr. (1849) és a *S. hirsutum* (Willd.) Pers. (1800) (elsőként leírt név: *T. hirsuta* Willd. (1787) bazídiumos fajok okozzák (Ravaz, 1898; Viala, 1926).

Az esca különböző korú növényeket képes megfertőzni, a betegség lefolyása akár több év is lehet.

A tünetek először a fás részekben jelennek meg, majd ezt követően figyelhető meg a vegetatív részek pusztulása (Lima et al., 2010; Bertsch et al., 2013).

A betegség megjelenési formája eltérő. Fiatalabb ültetvényekben a Petri kór, idősebb ültetvényekben pedig az esca fordul elő (Mostert et al., 2006; Aroca et al., 2008).

Az idősebb ültetvények esetén az apoplexia és a krónikus forma („black measles”) jellemző.

Az akut, gyors lefolyású megbetegedés (gutaütés-apoplexia) (**1. ábra**) (Mugnai et al., 1999; Fleurat-Lessard et al., 2010; Letousey et al., 2010; Mikulás, 2014) hirtelen hervadással, levelek lehullásával és a szőlő ráncosodásával járhat, nyár közepén jelenik

meg. A levelek halványzöld színűvé majd szürkészölddé válnak és elszáradnak. Ez a folyamat néhány nap alatt játszódik le.

Forró, nyári időszakban csapadékos időszakot követően magasabb a párolgás, így gyorsabb a növény anyagcseréje, ennek következtében a toxikus metabolitok könnyen szállítódnak (Mugnai et al., 1999).



1. ábra: Apoplexia tünetei Hárslevelű fajtán, a Tokaji Borvidéken (felső) és Merlot fajtán, a Szekszárdi Borvidéken (alsó)

(Kovács, Sándor, 2015)

A krónikus forma hosszabb lefolyású, több éven át tartó folyamat, mely főként a 8-10 éves vagy idősebb ültetvényeket támadja meg (Mugnai et al., 1999; Fischer és Kassemeyer, 2003; Mikulás, 2008; Fleurat-Lessard et al., 2010; Letousey et al., 2010; Bertsch et al., 2013; Mikulás, 2014). Fussler et al. (2008) szerint azonban az esca főként a 15-25 éves ültetvényeket támadja.

A leggyakoribb belső tünet a fehér rothadás, mely során a fás szövet szivacsossá, puhává válik.

Elhalás főként a nagyobb metszési sebek esetén jelenik meg, amikor a belső, fás szövetig történik a metszés, hiszen ekkor a kórokozók számára a bejutás esélye jóval nagyobb (**2. ábra**). Ezt követően a rothadás elérheti akár a felszínt is a repedések mentén, mely során a törzs szétreped. Ezt olaszul „mal dello spacco”-nak neveznek (Mugnai et al., 1999). Az elhalás felfelé és lefelé is terjedhet az oltás helyéig, azonban a gyökereket nem támadja meg (Mugnai et al., 1999).



2. ábra: Fehér korhadás Chardonnay fajtán

(Kovács, 2016)

A leveleken nekrotikus és klorotikus elváltozások jelentkeznek, melyet „tigriscsíkság”-nak neveznek (Mugnai et al., 1999; Essakhi et al., 2008). **(3. ábra)**. Ezek a tünetek általában a fertőzést követően néhány évvel később jelennek meg. A fekete kanyaró („black measles”) elnevezést ezen jellegzetes tünet miatt kapta a betegség.

Whiting et al. (2001) és Gramaje et al. (2010) kutatásaik szerint a levéltünetek először a telepítést követő 3-5 évben jelennek meg. Surico et al. (2006) szerint a betegség tüneteit mutató tőkék általában nyár közepén, száraz, forró időszakot követő, csapadékos időben figyelhetőek meg.

A hervadási tünetek megjelenése a xylemben történő vízháztartás felborulásának eredménye. A hervadási tüneteket emellett a szállító nyalábok elzáródása is okozhatja, mely elsősorban a törzs nem funkcionális részét érinti. A funkcionális szövet az elzáródás hatására általában nem színeződik el (Van Alfen, 1989).



3. ábra: Esca tünetek Furmint fajtán Tokaji Borvidéken

(Kovács, Balling, 2014)

Tünetként jelenhet meg továbbá a rügyek elhalása, valamint a kéreg alatt megjelenő sötét csík (Larignon és Dubos, 2001a). Larignon (2012) a fás szöveten szürkés, szektoriális nekrozist figyelt meg. A hajtások és a vesszők tavasszal csökkent növekedést mutatnak, melyek ősze elfásodnak. A fűrtök fonnyadtak, a bogyók alacsony cukortartalmúak, elvesztik a feszességüket, nem érnek meg. Előfordulhat, azonban, hogy egy fűrt esetén csak néhány bogyót érint a betegség (Mugnai et al., 1999).

Dél-Olaszországban és Franciaországban (Elszász) beszámoltak arról, hogy a bogyókon a fiatalabb és az idősebb ültetvények esetén egyaránt elszórtan sötét, lilás színű foltok jelennek meg különösképpen a fehér fajták esetén (Chiarappa, 1959; Graniti, 1960; Grasso, 1969; Dubos, 1996; Eskalen et al., 2007).

Ezek a foltok a fenolos vegyületek polimerizációja és az enzimek oxidációs aktivitása miatt is kialakulhatnak. A toxinok a magas sugárzás miatt transzlokálódnak a bogyókban (Mugnai et al., 1999).

A Petri betegség szoros összefüggését az escaval már világszerte leírták (Ridgway et al., 2002; Halleen et al., 2003; Edwards és Pascoe, 2004).

A fiatalabb ültetvények esetén a betegségcsoportból a Petri betegség, a fiatal esca (young esca), a „young vine decline” és az egyes forrásokban „black goo”-ként emlegetett (fás szövetben megjelenő fekete mézga) megjelenési forma jellemző.

A Petri betegséget először a XX. század elején Petri írta le Dél-Olaszországban, Szicíliában (Petri, 1912). Kutatása során a belső, fás szöveti tüneteket két *Cephalosporium* és egy *Acremonium* fajjal reprezentálta.

A betegség kezdetben vírusos betegségekkel (levélfoltosságot okozó vírus (franciául: court noué), levélsodródást okozó vírus (olaszul: arricciamento)) összetéveszthető. Az 1 évnél fiatalabb hajtásokon jelenik meg a jellegzetes tünet (Gramaje és Armengol, 2011; Dula, 2012; Bertsch et al., 2013). Terjedése elsősorban a fertőzött oltványok révén történik és rohamos hozam csökkenést okoz (Mugnai et al., 1999). Castillo-Pando et al. (2001); Phillips (2002) igazolták, hogy a tünetek kialakításában a *Botryosphaeria lutea* is részt vesz.

A vegetációs időszakban a lombozati tünetek megjelenése június és szeptember közötti időszakra tehető. Viala (1926) szerint a tünetek nagyobb arányú megjelenése a növényben lévő tannin szint 12-13 éves kortól egészen 25-30 éves korig tartó emelkedésével magyarázható az idősebb ültetvényekben. Mugnai et al. (1999) vizsgálataikban a tüneteket már 4 éves ültetvényekben is észlelték, azonban ezek megjelenése leggyakrabban a 10 éves vagy idősebb ültetvényekben volt tapasztalható. A

betegség megjelenésének sajátossága, hogy nem minden szőlőtőkén, illetve nem minden levélen láthatóak a tünetek (Petit et al., 2006). A barna csíkok megjelenése főleg az idősebb ültetvények esetén jellemző, kezdetleges esca tünet (Mugnai et al., 1999; Surico et al., 2006; Bertsch et al., 2013).

A betegség valós előfordulását nehéz becsülni, ezért Surico et al. (2000) azt javasolták, hogy a felmérés esetén 3-5 évet kell figyelembe venni. A belső nekروزis a betegség súlyosságát jobban tükrözi, mint a levélen megjelenő nekروزis, mely csak részlegesen mutatja az elhalás mértékét, a betegség terjedését (Mugnai et al., 1999). Calzarano és Di Marco (2007) kutatásukban szignifikáns korrelációt nem találtak két, vizsgált olasz fajtán (cv. Trebbiano, d'Abruzzo, cv. Sangiovese) megjelenő vizuális és belső nekروزis (barna-fekete csíkozottságot, fás szövet gumósodása) között.

A fiatal esca („young esca”) az új telepítések legpusztítóbb betegsége (Larignon és Dubos, 1997; Mugnai et al., 1999; Halleen et al., 2003; Martin és Cobos, 2007). Kutatási eredmények alapján bizonyítható, hogy a „fiatal esca” kialakulása a *Phaeoacremonium* fajoknak köszönhető, melyek a törzsön a barnás csíkozottságot eredményeznek. A fehér korhadásért pedig a *F. punctata* felelős (Mugnai et al., 1999; Mikulás, 2014).

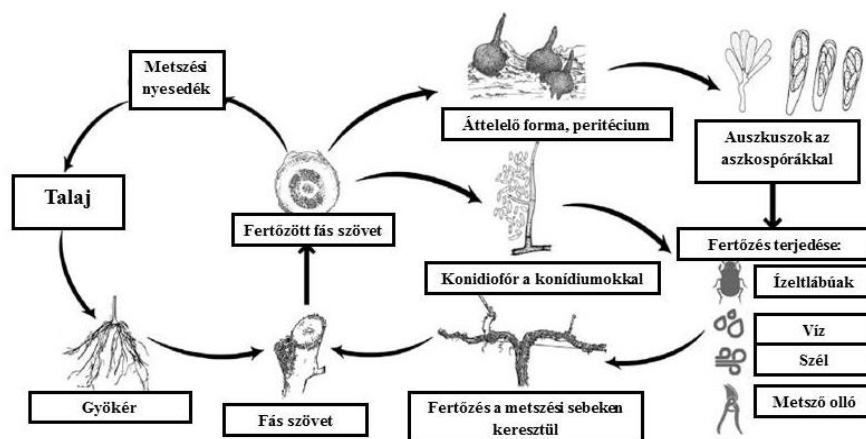
Magyarországon 1997 óta észlelik Merlot fajtánál a Petri betegség jelenlétét az Egri Borvidéken, ennek következtében a borvidéken 30-50%-os úratelepítésre volt szükség (Dula, 2003, 2004). Hazánkban Lehoczky és Makó (1983) a dél-balatoni régióban végzett vizsgálataik alapján a 18 éves, magas kordonművelésű Piros Tramini fajtánál az esca 11,6%-os jelenlétét tapasztalták. Később, 1997 és 1998 között 9 bortermelő területen mérték fel az esca fertőzöttséget, mely 8-21% között alakult (Aponyi et al., 1999). Rábai et al. (2008) a fás betegségek megjelenését 2000 és 2001 között vizsgálták. Megállapították, hogy az esca és az eutipás elhalás jelenléte az idősebb és a fiatalabb (4-5 éves) ültetvényekben egyaránt növekedett. Az esca tünetek jelenléte Dula (2011) szerint 2003 és 2007 között 1,8%-ról 13%-ra növekedett hazánkban. Ebben az időszakban ugyanakkor, a Pannon-Borrégió északi részén 1998 és 2004 között az esca előfordulása 20% körül alakult (Rábai et al., 2005). Ugyanez a kutatócsoport 2003 és 2005 között 13 magyar borvidéken figyelte meg az esca jelenlétét (Rábai et al., 2008), melyek közül a Balatonboglári Borvidéken volt a legmagasabb a fertőzöttség (38,10%). Ezen időszakban a legalacsonyabb fertőzöttséget a Tokaji Borvidék mutatta, ahol a betegség előfordulási gyakorisága nem érte el a 2%-ot. A tünetes fás szövetekben 57%-ban *Fomitiporia* fajokat találtak, emellett a kordonkarból *Botryosphaeria* és *P. viticola* fajokat azonosítottak (Rábai et al., 2008). A Tokaji Borvidékről 5-6 éves Furmint fajtából csak *Fomitiporia*

fajokat azonosítottak. Ugyanakkor a Badacsonyi Borvidéken, idősebb ültetvényben a korábban említett *Fomitiporia* sp., *P. viticola* és *Botryosphaeria* fajok mellett *P. chlamydospora* volt jelen. Ezen vizsgálati időszakban az Egri Borvidéken fiatal, Petri betegség tüneteit mutató, Merlot ültetvényből ugyancsak *P. chlamydospora*, továbbá *Phaeoacremonium* spp. és *Cylindrocarpon* sp. jelenlétét is igazolták (Rábai et al., 2008).

Megállapították, hogy az éghajlati tényezők jelentős mértékben befolyásolták az esca tünetek megjelenését, melyek közül legfontosabb tényező a csapadék mennyisége volt (Rábai et al., 2008). A jellemző esca kórokozók mellett, a fertőzött fás szövetből más gombafajokat is izoláltak (*Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Alternaria alternata*, *Aspergillus* spp., *Trichoderma* spp., *Verticillium* spp., *Pestalotzia pezizoides*, *Monochaetia viticola*) (Rábai et al., 2008).

A *Phaeoacremonium* fajok fertőzési ciklusa nagyon összetett folyamat (Gramaje et al., 2015). A metszést követően a szőlő már a talajra kerülő vesszőkről a gyökereken keresztül is fertőződik. A kórokozó átteleléséhez a teleomorf alak szükséges. Az aszkospórák a peritéciumokban képződnek, melyek a metszési sebekben át fertőzik a szőlőt. Később, a vegetációs időszakban, a gomba anamorf alakja van jelen. (4. ábra) (Gramaje et al., 2015).

A vegetációs időszakban képződő konídiumok a szél segítségével jutnak a növénybe és ugyancsak a metszési sebekben keresztül képesek fertőzni (Díaz és Latorre, 2013; Gramaje et al., 2015).



4. ábra: A *Phaeoacremonium* fajok fertőzési ciklusa

(Gramaje et al., 2015)

2.1.1 *A betegség kialakulásában szerepet játszó abiotikus és biotikus tényezők*

A betegség kialakulásában biotikus és abiotikus okok egyaránt szerepet játszhatnak. Graniti (2006) szerint az éghajlati tényezők változása jelentősen hozzájárul a növények betegséggel szembeni ellenálló képességének gyengítéséhez, melynek eredményeképpen a patogének képesek a fás szövetbe bejutni és kolonizálódni.

Bordeaux-i területen, a vízhiány esetén a levéltünetek nem alakultak ki (Destreck 2007). Az éghajlati viszonyok ugyanakkor nem befolyásolták a levéltünetek megjelenését az Elzászi (Alsace) Borrégióban (Kuntzmann, 2010; 2013). Ezt a tényt azonban Leavitt (1990); Úrbez-Torres et al. (2006a); Van Niekerk et al. (2006) és Pitt et al. (2010) cáfolták.

A humuszban gazdag talajok esetén Szicíliában Grasso (1969) kutatásaiban bizonyította, hogy az esca tünetek gyakrabban fordultak elő. A gyakori és a durva metszés kedvező feltételeket teremt az esca kialakulásának, ezért a művelési mód befolyásolhatja a betegség megjelenését. Lafon (1921) eredményei alapján a gutaütés jóval alacsonyabb (0,1%) mértékben fordult elő az egy szálvesszős Guyot művelés esetén, mint a két szálvesszős esetén (15-20%).

Andreini et al. (2013) a fajta és az alany kapcsolatát vizsgálták, mint biotikus tényező szerepét a betegség kialakulásában. Arra keresték a választ, hogy a Cabernet Sauvignon, Sangiovese vagy a Trebiano Toscano fajták fogékonyabbak-e rügylakadás idején a betegségre K5BB és 1103P alanyok esetén. Megállapították, hogy a K5BB alanyra oltott Cabernet Sauvignon volt a legérzékenyebb az escara.

Peroš et al. (2008) szerint nincs kapcsolat a kórokozó gomba, a megjelenő levéltünet és az okozott nekrosis között. Hofstetter et al. (2012) kutatásaikkal bizonyították azt, hogy a betegség kórokozói hasonló gyakorisággal vannak jelen a tünetet mutató és a tünetmentes ültetvényekben is.

Elmondható tehát, hogy a betegség kialakulását befolyásolja a földrajzi elhelyezkedés, a fajta és a művelési mód egyaránt (Maher et al., 2012). Megállapítható továbbá az is, hogy a kórokozók jelenlétében azonban nem minden esetben és nem is minden évben jelentkezik a levéltünetek, vagyis a kórokozó jelen lehet látens módon („hidden esca”) is (Marchi et al., 2006).

2.2 Eutípás rák és elhalás

Az eutypás tőkeelhalást az *E. lata* (Pers.: Fr.) Tul. & C. Tul. (syn.: *Eutypa armeniacae* Hansf. & M.V. Carter; anamorf: *Libertella blepharis* Tul. & C. Tul (1863) A.L. Smith, Rappaz (1984) kórokozó gomba okozza (Lehoczky és Moller, 1979; Carter, 1988; 1991; Dula, 2012). A fertőzött fás szövetben megtalálhatóak még más kórokozók is: *P. chlamydospora* (Pch), *P. aleophilum* (Pal), *Sphaeropsis malorum*, *P. viticola* és a *P. ignarius* (Péroš et al., 1999) vagy akár az antagonista *Gliocladium roseum* is (Ricard et al., 1974). Ausztráliában a betegség kialakításában az *E. lata* fajon kívül más fajokat is leírtak már: *Eutypella microtheca*, *Eutypella citricola*, *Diatrypella vulgaris* (Trouillas et al., 2011). Chilében az *Eutypella leprosa* fajt Díaz és Latorre (2013) írták le. Phillips (2002) és Gubler et al. (2005) a metszési sebekben *Botryosphaeria* fajokat is azonosítottak, melyeket a fás szövet károsodásáért tettek felelőssé.

Az anamorf *L. blepharis* A.L. Smith (1900) a betegség terjedésében nem vesz részt (Carter, 1991; Gubler et al., 2005).

A kajsziarack rákosodását is okozó *E. lata* fajt először Hansford és Carter írták le 1957-ben Dél-Ausztrália területén (Carter, 1957). Később Carter (1991) a szőlő fás tőkerészén azonosította. Carter (1957) cikkében említést tesz arról, hogy a betegséget Ausztráliában már az 1935 körüli években is ismerték, emellett a kajszin megtalálta a kórokozó aszkospóráit is.

Az *E. lata* kórokozót számos más országban is megtalálták már: Brazília (Paradela et al., 1993), Kanada, Izrael, Líbia, Mexikó, Új-Zéland, Dél-Afrika, valamint Egyesült Államok (Kalifornia, Oregon, Washington, Michigan, New York) (Carter, 1991; Munkvold, 2001).

Moller és Carter (1977) az Egyesült Államokban és Kanada Ontario tartományában *V. vinifera* (L.) ültetvényben vizsgálták a szőlőtőkéken jelentkező rákos sebek kialakulását és az azt követő elhalást. Eredményeik alapján megállapították, hogy a tüneteket ezeken a területeken nem a *P. viticola* fajok, hanem az *Eutypa* fajok okozták. Mexikóban Téliz és Valle (1979) is azonosították a betegséget.

Lehoczky és Moller (1979), továbbá Vajna (1983) Magyarország mellett több országot is említ, hasonlóan más kutatókhoz, ahol a kajszit is támadó eutípás elhalást megtalálták (Új-Zéland, USA, Franciaország, Svájc, Dél-Afrika, Spanyolország, Görögország, Olaszország).

A kórokozónak a kajszin kívül számos más gazdanövényét azonosították már: cseresznye (Munkvold-Marois, 1994), meggy, dió (Carter és Talbot, 1974), mandula, olíva, alma, szilva (Carter, 1960; Lehoczky és Moller, 1979; Munkvold, 2001). A kajsziibarack esetén tünetként a „mézgásodás” jelenik meg (Munkvold, 2001). A szőlőn előfordul a torzult, satnya lombozat, a kajszinál azonban ez a tünetmegjelenés nem jellemző (Munkvold, 2001). Előfordulhat azonban, hogy néhány ágon satnyulnak a hajtások, majd később a levelek, ahol a szállítószövetek vízszállítása összeomlik.

Az *E. lata* a metszési sebeken keresztül jut be a növénybe (English és Davis, 1978; Lehoczky és Moller, 1979). A kajsziibarack fák esetén a kórokozó bejutva a xylembe először a kéregbe, majd a hancs részbe kerül. A fertőzést követő 1-3 évig tartó lappangási időszakot követően a szövetben fekélyek alakulnak ki (English és Davis, 1978; Lehoczky és Moller, 1979). A fás szövetben a patogén lágy rothadást idéz elő. Ezt a kifejezést először Savory (1954) használta. A lágy rothadást *Ascomycota* fajok (Blanchette, 1995), míg a barna és a fehér rothadást *Basidiomycota* fajok okozzák (Blanchette, 1995; Martinez et al., 2005).

A betegség főként az egy évnél idősebb, általában 4-5 éves tőkéken jelenik meg. Ramos et al. (1975b) vizsgálataik során bizonyították, hogy az *E. lata* legintenzívebb fertőzőképessége az őszi időszakra tehető. A kéreggel nem rendelkező fás szöveten fekete színű sztróma (termőtest) alakul ki.

A betegség megjelenése azokon a területeken gyakori, ahol az éves csapadékmennyiség több mint 250 mm (Bertsch et al., 2013), Vajna (1983) szerint 350 mm. A nagy mennyiségű csapadéknak köszönhetően az aszkospóráknak lehetőségük van a peritéciumból kiszabadulni és a metszési sebeket fertőzni (English és Davis, 1978; Moller és Kasimatis; 1978; Gubler et al., 2005). Más kutató szerint az aszkospórák kifejlődéséhez kedvező, ha napi 0,5 mm mennyiséget meghaladó csapadék hull (Carter, 1957; Ramos et al., 1975a; Petzholdt et al., 1983; Paillassa, 1992).

Lehoczky és Moller (1979) kutatásukban bizonyították, hogy az éves csapadék mennyisége és eloszlása hozzájárulhatott ahhoz, hogy a betegség a magyarországi szőlőültetvényekben az 1970-es években jellemző volt. A vizsgálataik alapján azt találták, hogy az alföldi szőlészetekben kisebb mértékű volt a betegség előfordulása. A szőlőn végzett kutatásokkal párhuzamosan ebben az időben a kajszi mézgásodását is vizsgálták. Az aszkospórák a csapadékos időben a szél és az eső segítségével terjednek (Lehoczky és Moller, 1979; Gubler et al., 2005). Csírázásuk optimális hőmérséklete 22-25°C, azonban Gubler et al. (2005) szerint az *E. lata* már 1°C fölött is képes fertőzni.

Nagy mennyiségű spóra kiszabadulás a téli időszakra tehető (Ramos et al., 1975b; Petzholdt et al., 1982; Gubler et al., 2005). Paillessa (1992) szerint azonban ez a tavaszi időszakban is lehetséges. Carter (1957; 1960; 1991); Carter és Moller (1970) és Ramos et al. (1975a) bizonyították, hogy a metszést követő alacsonyabb hőmérséklet a metszési sebet sárgabarack esetén fogékonyabbá teszi a betegségre. Szőlőn ezt a tényt Moller és Kasimatis (1980); Trese et al. (1980; 1982); Petzholdt et al. (1981, 1982) és Munkvold és Marois (1995) írták le.

A betegség tipikus tünete a törzs és a kordonkar keresztmetszetében jellegzetes, ék alakú, zónált, barnás, hosszanti irányú nekrotikus elhalás, a satnya hajtások továbbá a leveleken megjelenő klorotikus pontok (5. ábra) (Lehoczky, 1974; Bolay et al., 1977; Moller és Kasimatis, 1981; Duthie et al., 1991; Creaser és Wicks, 2001; 2004; Gubler et al., 2005; Rábai et al., 2005; Hluchy, 2007; Sosnowski et al., 2009; 2011).

Gubler et al. (2005) szerint a sztrómák, melyekben a peritéciumok termelődnek az idősebb ültetvényeken jelennek meg. Lehoczky és Moller (1979) szerint elhalt növényeken a peritéciumokat már 1937-ben megfigyelték több kaliforniai szőlőültetvényben. Balatonszemes környéki és a rád-pusztai szőlőültetvényekben végzett vizsgálataik során az elhalt szövetekben tömegesen képződött termőtesteket találtak. A satnya hajtások (5. ábra) később terméketlen, kicsi fürtöket eredményeztek (Lehoczky és Moller, 1979).



5. ábra: Az eutipás elhalás okozta satnya hajtás és az ék alakú nekrosis a fás szövet keresztmetszetén

(Kovács, 2014, Dél-Ausztrália, Barossa-Valley Wine Region)

Lombozati tünetek (5. **ábra**) általában a 3-8 éves ültetvények esetén jellemzőek, megjelenésük tavaszra tehető (Carter, 1988; Tey-Rulh et al., 1991). Több kutató szerint ezt az *E. lata* által termelt toxinok okozzák (Moller és Kasimatis, 1981; Tey-Rulh et al., 1991; Gubler et al., 2005). Moller és Kasimatis (1981) és Tey-Rulh et al. (1991) szerint a kórokozó által termelt toxinok acetilén-fenol vegyületek. Fallot et al. (1997) szerint a toxicitást az eutipin vegyület okozza. Schmidt et al. (1999) kutatásaiban azt állapították meg, hogy a lombozati tünet a hidroláz enzimek jelenlétével hozható összefüggésbe.

A kórokozó pusztításának következtében a növény vízellátása összeomlik, csökken a növényi sejtek permeabilitása. Mahoney et al. (2005) szerint a gombák által termelt metabolitok gátolják a tápanyagszállítást a szállítószövetben.

Dubos (1987) kutatása során néhány szőlőfajta eutipás elhalással szembeni fogékonyágát vizsgálta. Megállapította, hogy például a Merlot, Sémillion és a Grolleau stb. fajták kevésbé fogékonyak. A Cabernet Franc, Portugais, Riesling, Duras, Malbec fajták mérsékelten fogékonyak. Fogékony fajtának tekintette például az Alicante, Chardonnay, Chenin, Pinot noir és a Sirah fajtákat. A betegségre erősen fogékonnak a Cabernet Sauvignon, Grenache, Negrette, Ugni blanc fajtákat írta le.

2.3 *Botryosphaeria* fajok okozta elhalás

A *Botryosphaeria* fajok okozta tőkeelhalást többféle néven írták már le: „Bot”, Black Dead Arm (BDA, fekete kordonkar elhalás), exkoriózis, *Botryosphaeria* dieback, *Diplodia* dieback, Grapevine decline syndrome, *Diplodia* cane dieback, bunch rot, *Botryosphaeria* cancer (Davis on és Tay, 1983; Latorre és Toledo, 1984; Maas és Uecker, 1984; Milholland, 1988; Phillips, 1998; Van Niekerk et al., 2003; Savocchia et al., 2007; Úrbez-Torres, 2011a; Van Niekerk et al., 2006). Világszerte megállapították, hogy számos faj okozhatja az elhalást (Shoemaker, 1964; Milholland, 1988; Phillips, 1998; Larignon et al., 2001c; Auger et al., 2004; Van Niekerk et al., 2004).

A *Botryosphaeria* fajok látens kórokozói a szőlőnek (Slippers és Wingfield, 2007), melyek különböző tüneteket okozhatnak, mint például a jellegzetes fekete kordonkar elhalást (Lehoczky, 1974; Cristinzio, 1978; Phillips 2002, Auger et al., 2004; Van Niekerk et al., 2006; Savocchia et al., 2007; Rego et al., 2008).

Kórokozóként eddig világszerte több, mint 20 különböző, a *Botryosphaeriaceae* családba tartozó fajt azonosítottak (Úrbez-Torres, 2011a), melyek közül a *Diplodia mutila* (Fr.) Mont. (1834) (teleomorf: *Botryosphaeria stevensii* Shoemaker (1964))

mellett a *D. seriata* de Not. (1842) (teleomorf: *B. obtusa* Schwein Shoemaker (1964) (Lehoczky, 1974; Cristinzio, 1978), *Neofusicoccum parvum* Pennycook & Samuels (1985) (teleomorf: *Botryosphaeria parva* (Crous et al. 2006)) jelenlétét mutatták ki leggyakrabban (Bertsch et al., 2013). Magyarországon a *D. seriata* fajt mutattuk ki leggyakrabban a Tokaji Borvidéken (Kovács et al., 2014b). Savocchia et al. (2007) kutatásaik során az egészséges és a fertőzött növény fás szövetében egyaránt leggyakrabban *D. seriata*, *Neofusicoccum luteum* (syn.: *B. lutea*, anamorf: *Fusicoccum luteum* Pennycook & Samuels (1985); Phillips et al. (2002), *Botryosphaeria dothidae* Moug. Ces. & De Not. (1863) (anamorf: *Fusicoccum aesculi*) és *Botryosphaeria viticola*, (anamorf: *Dothiorella viticola* (Phillips et al., 2006) fajokat azonosítottak. A taxonómiai identifikáláshoz főként az anamorf alak jellemzőit (konídium alakja, mérete, felülete) vették figyelembe (Jacobs és Rehner, 1998; Denman et al., 2000; Phillips, 2002), mivel a teleomorf alak a természetben ritkán fordul elő (Shoemaker, 1964). Alves et al. (2005) szerint azonban csak az anamorf alak ismerete pontatlan identifikáláshoz vezet.

Ezeket az *Ascomycota* fajokat a borszőlőn kívül azonosították már almán (Fenner, 1925; Fulkerson, 1960), körtén (Al-Haq et al., 2002), barackon (Rittenburg és Hendrix, 1983; Brown és Britton, 1986), oliván (Phillips et al., 2005; Romero et al., 2005; Lazzizzera et al., 2008; Sergeeva et al., 2009) és csemege szőlőn is (Luttrell, 1948; Kummung et al., 1996 a, b).

A fajok lehetnek paraziták, endofiták vagy szaprofiták egyaránt (Barr, 1987; Denman et al., 2000; Phillips, 2002). Phillips (1998) bizonyította, hogy a *B. dothidea* felelős a törzsön megjelenő fehéres kéreg kialakulásáért, valamint a rügyek és a hajtások pusztulásáért. Castillo-Pando et al. (2001) Ausztráliában Chardonnay fajtán végzett vizsgálataik során *B. obtusa* fajt inokuláltak a fás szövetbe az elhalásra jellemző jellegzetes elváltozás reprezentálásához. A mesterséges inokulálást *B. dothidea*, *D. mutila*, *D. seriata*, *Dothiorella iberica*, *Do. viticola*, *Lasiodiplodia theobromae* Griffon-Maubl. (1909) (korábbi neve: *Botryodiplodia theobromae* Pat. (1892), *Neofusicoccum australe*, *N. parvum* fajokkal 15 éves Chardonnay ültetvényben Pitt et al. (2013) is elvégezték. Taylor et al. (2005) szerint azonban a *D. seriata* szaprofitaként jelen van a szőlőben.

Tomaz és Rego (1990) kutatásaik során azt találták, hogy az *N. luteum* lehet az exkoriózis kórokozója. Phillips (1998; 2002) munkáiban szintén megállapította, hogy valóban van összefüggés az exkoriózissal, azonban vizsgálatokkal igazolták, hogy a tüneteket a *N. parvum* okozta.

Portugáliában Phillips (2002) sérült oltványoknál mutatta ki a *N. parvum* kórokozót. Dél-Afrikában (Savocchia et al., 2007) és Ausztráliában (Taylor et al., 2005) a *B. australis* faj okozta a rothadást és a jellegzetes tünetek megjelenését. Új-Zélandon Baskarathevan et al. (2012) a vizsgált ültetvényekben kilenc *Botryosphaeria* fajt találtak: *N. parvum*, *N. luteum*, *N. australe* (syn.: *Botryosphaeria australis*, *Fusicoccum australe* (Crous et al., 2006), *Neofusicoccum ribis* (Crous et al., 2006) (syn.: *Botryosphaeria ribis* A.J.L. Phillips, J. Luque & A. Alves (2005)), *D. mutila*, *D. seriata*, *N. luteum*, *Dothiorella sarmentorum* (Phillips et al., 2005) (teleomorf: *Botryosphaeria sarmentorum* A.J.L. Phillips, A. Alves & J. Luque (2005)), *Do. iberica* (teleomorf: *Botryosphaeria iberica* (Phillips et al., 2005)). Ausztráliában 10 fajt azonosítottak: *B. dothidea*, *Diplodia* sp., *Dothiorella* sp., *Lasiodiplodia* sp. és *Neofusicoccum* fajokat (Pitt et al. 2010; Wunderlich et al. 2011). Hasonló fajokat találtak Texasban (Úrbez-Torres et al., 2009), Kaliforniában (Úrbez-Torres et al., 2006a), Mexikóban (Úrbez-Torres et al., 2008), Spanyolországban (Úrbez-Torres et al., 2006b) és Ausztráliában (Castillo-Pando et al., 2001; Taylor et al. 2005; Qiu et al., 2010). Kínában elhalást okozó kórokozóként a *N. luteum*, a *D. seriata*, a *L. theobromae* és a *N. parvum* fajokat izolálták (Yan et al., 2011 a; b; Úrbez-Torres et al., 2012). A *N. parvum* kórokozó Dél-Afrikában oltványokon és gyökeres alanyvesszőkön volt megfigyelhető, mely a V-alakú vagy fél hold alakú elváltozást okozott, emellett a termőtestek jelenléte is igazolható volt (Van Niekerk et al., 2003).

Van Niekerk et al. (2004) kutatásaik során a szőlő metszési sebein találtak egy új fajt, melyet *Fusicoccum viticlavatum*nak Van Niekerk & Crous (2004) (jelenleg: *Neofusicoccum viticlavatum* Van Niekerk & Crous, 2006) nevezték el. A fás szövetet károsító *Fusicoccum vitifusiforme* Van Niekerk & Crous (2004) (jelenleg: *Neofusicoccum vitifusiforme* Van Niekerk & Crous (2006) fajt is ők írták le először. Ezeket a fajokat és az általuk okozott nekrozist mesterséges inokulálással is kimutatták. Ezen fajokkal együtt a *B. australis* is új fajként lett leírva Dél-Afrikában. Mexikóban 1 éves ültetvény zöld hajtásából izoláltak *D. seriata* fajt, emellett Dél-Afrikában, Kelet-Ausztráliában és Franciaországban (Larignon et al., 2001c; Van Niekerk et al., 2004; Savocchia et al., 2007). Ezen országokból a fertőzött fás szövetből nagy többségében *Botryosphaeriaceae* családba tartozó fajokat izoláltak.



6. ábra: A *Botryosphaeria* okozta elhalás Furmint fajtán a Tokaji Borvidéken

(Kovács, Hongtao, 2013)

(a, b: nekrózis a levélen, c: elhalás a fás szöveten, d, e: rothadó bogyók a fürtön)

A betegség tünetei változatosak lehetnek és nem minden tőkén jelennek meg (Gubler et al., 2005; Sosnowski és Loschiavo, 2010). Eleinte a leveleken nekrotikus elhalások lehetnek, foltosság jellemző, majd száradásnak indulnak (6/a, 6/b. ábra). Lecomte et al. (2012) vizsgálataikkal ennek ellenkezőjét igazolták. A hajtásnövekedés lelassul vagy teljesen megáll. A szállítószövetben kereszt vagy hosszirányú sötétbarna elszíneződés látható (6/c. kép) (Larignon, 2004). Castillo-Pando et al. (2001) és Larignon et al. (2001a; c) megállapították, hogy ezt a tünetet a *B. obtusa* okozza.

Súlyosan fertőzött növény esetén már a rügyfakadás idején megfigyelhető a nekrózis. A kéreg kifehéredik, melyen sötét foltokban jelennek meg a *Botryosphaeria* fajok piknídiumai (Gubler et al., 2005). A fürtök rothadásnak indulnak (6/d, 6/e ábra) (Gubler et al., 2005; Bonfiglioli és McGregor, 2006; Van Niekerk et al., 2006; Wunderlich et al., 2009; Mundy és Manning, 2010). Az *N. ribis* és a *N. luteum* fajok a bogyókon repedéseket okoznak, micéliumot képeznek. Előfordulhat súlyosabb esetekben, hogy a bogyó kiszárad, megfeketedik, mumifikálódik, a felületen pedig fekete piknídiumokat fejleszt (Luttrell, 1948; Kummuang et al., 1996a). A *D. seriata* és a *N. parvum* fajok legnagyobb arányban alvó rügyeken, szüreteléskor a fürtökön, valamint a fás szövetben találhatóak meg (Wunderlich et al., 2011).

A *N. parvum*, a *N. australe* és a *L. theobromae* fajok együttes előfordulása során a pusztulást megelőzően a tünetek hosszabb ideig állnak fenn (Úrbez-Torres et al., 2009; Pitt et al., 2013). Ezeket a fajokat először kiwin (Pennycook és Samuels, 1985), akácon

(Slippers et al., 2004) és kakaón (Patouillard és De Lagerheim, 1892) írták le. Úrbez-Torres et al. (2007) kutatásaik során először írták le a *Do. iberica*, *Do. viticola* fajok patogenitását. Pitt et al. (2013) leírták, hogy a *B. dothidea* és a *Diplodia* fajok mérsékelten fertőző patogének, ezt Phillips (1998); Taylor et al. (2005); Luque et al. (2009); Úrbez-Torres et al. (2009); Úrbez-Torres és Gubler (2011b) is megerősítették. A tőke keresztmetszetén V alakú elhalás figyelhető meg, mely hasonlít az *E. lata* okozta elhalás tünetére (Leawitt, 1990; Castillo-Pando et al., 2001; Phillips, 2002; Gubler et al., 2005; Wood és Wood, 2005; Van Niekerk et al. 2006; Savocchia et al., 2007; Úrbez-Torres 2011a; Baskarathevan et al., 2012). Hasonló tüneteket figyeltek meg más országokban is: Ausztrália (Castillo-Pando et al., 2001; Taylor et al., 2005; Pitt et al., 2010), Dél-Afrika (Van Niekerk et al., 2004), Kalifornia (Leavitt és Munnecke, 1987; Úrbez-Torres et al., 2006a), Libanon (Choueiri et al., 2006); Észak-Mexikó (Úrbez-Torres et al., 2008), Chile (Auger et al., 2004) Spanyolország (Úrbez-Torres et al., 2006b), Franciaország (Larignon és Dubos, 2001a) Egyiptom (El-Goorani és El-Meleigi, 1972), Egyesült-Államok (Shoemaker, 1964; Úrbez-Torres, 2011a), Kína (Li et al., 2010; Yan et al., 2013), Portugália (Phillips, 2002), Jugoszláviában, Hercegovina (Radman et al., 1981) szőlőültetvényeiben. Kaliforniában, Ausztráliában, Portugáliában a *Botryosphaeria rhodina* (elsőként leírt név: *Physalospora rhodina* Berk. & M.A. Curtis (1889); később *B. rhodina* (Cooke) Arx. (1970)) okozta ezeket a tüneteket (Pascoe, 1998; Phillips, 2002; Taylor et al., 2005; Wood és Wood, 2005). Dél-Afrikában íves alakú elváltozásokat okozott ugyanez a faj (Van Niekerk et al., 2003).

Savocchia et al. (2007) kutatásuk során megállapították, hogy a Semillon, Chardonnay, Shiraz, Cabernet Sauvignon és a Muscat fajták fogékonyak a betegségre.

A fekete kordonkar elhalást (black dead-arm, BDA) először Lehoczky 1974-ben Magyarországon a Tokaji régióban írta le, majd Cristinzio (1978), Rovesti és Montermini (1987) azonosították Olaszországban. Franciaországban 1999-ben azonosították először (Larignon et al., 2001c). A BDA betegség kórokozójaként korábban csak a *D. mutila* fajt írták le, ma már azonban a *D. seriata* és a *B. dothidea*, *L. theobromae* kóroktani szerepét is bizonyították (Larignon et al., 2001c; Phillips, 2002; Van Niekerk et al., 2006; Kuntzmann et al., 2010; Andolfi et al., 2011; Úrbez-Torres, 2011a).

A botrioszfériás elhalás (*Botryosphaeria dieback*) könnyen összetéveszthető az esca-val hiszen hasonló tüneteket mutat a fertőzött tőke (Larignon et al., 2001c). A *Botryosphaeria* fajok jelentőségét az is bizonyítja, hogy Franciaországban 20%-kal nagyobb veszteséget okoztak a Bordeaux-i bortermelő régióban (Larignon és Dubos, 2001a). A kórokozók

főként a 8 évnél idősebb ültetvények esetén azonosíthatóak (Larignon és Dubos, 2001b). Úrbez-Torres et al. (2006a) Kaliforniában nem talált összefüggés az ültetvény kora és a fertőzöttség mértéke között. Amponsah et al. (2011) kutatásukban azt állapították meg, hogy a 8 évnél fiatalabb ültetvényekben kisebb a kórokozók aránya, köszönhetően annak, hogy nem tudtak termőtesteket és konídiumokat képezni.

Yan et al. (2013) Kínában végzett kutatásaik alapján igazolták, hogy a betegség a 3 és 5 év közötti ültetvényeket támadja meg.

Alfonzo et al. (2009) szerint a *Botryosphaeria* fajok megjelenése főként az esős időszakokban jelentős a metszést követően. Ezt a tényt korábban Lehoczky is leírta munkáiban (Lehoczky, 1974; 1988). Bizonyította, hogy a *D. mutila* (teleomorf: *B. stevensii*) áttelel a szőlőn, piknídiumot fejleszt, majd az esős időszak kedvez a spórák kiszabadulásának. Sutton (1981) kutatásokkal bizonyította ezt alma és őszibarack esetén is, míg Pusey (1989) és Michaliades és Morgan (1993) kutatásaik során arra következtettek, hogy a *B. dothidea*, *D. seriata* (teleomorf: *B. obtusa*) és a *B. rhodina* aszkospórái akkor jelennek meg, ha magas a relatív páratartalom, esős időszak vagy hosszan tartó nedvesség van. Phillips (1998), a korábbi kutatókhoz hasonlóan, szintén megállapította, hogy a fertőzés súlyossága függ a nedvességtől, ennek hatására a peritéciumok és a pszeudotéciumok nagyobb mértékű spóráképzésre képesek. A *D. seriata* okozta elhalás esetén is bizonyított, ha magas a relatív páratartalom, valamint a csapadék mennyisége, akkor a fertőzés mértéke is magasabb (Hewitt és Pearson, 1988a).

Larignon és Dubos (2001b) megfigyeléseikkel igazolták, hogy a vörös fajtnál a levelek érkeze mentén piros pigmentáció jelenik meg, majd a tünetes szövet végül elhal. A fehér fajtnál esetén néha peronoszpórára hasonlító olajfoltoszerű elszíneződés, sárgás narancsos színű foltok tapasztalhatóak a leveleken. Kutatásukban bizonyították, hogy a vizsgált Gewurztraminer és az Auxerrois fajtnál a *D. seriata* volt a felelős a levéltünetek megjelenésért.

Galet (1999) szerint a Royat kordon művelési mód esetén a betegség kevésbé jellemző, mint a Guyot művelés esetén, ahol a metszés során nagy metszési sebek keletkeznek.

Gimenez-Jaime et al. (2006) és Billones-Baaijens et al. (2013) kutatásaikban bizonyították, hogy a spanyol és az új-zélandi oltványiskolákban is jelen vannak a *Botryosphaeria* fajok, melyek az oltványoknál is kialakítják a betegségre jellemző tüneteket. Fourie és Hallen (2001) megállapították, hogy a betegség előfordulása az egy éves alanyvesszők bazális internódiumainál jelentős. Bizonyították továbbá, hogy a látszólag egészséges növényben is megtalálhatóak a *Botryosphaeria* fajok. Billiones et

al. (2010) kutatásaik során egészséges oltványokban Új-Zélandon 9 oltványiskolában a *Neofusicoccum macroclavatum* fajt találtak.

A betegség előfordulása mindenhol lehetséges, ahol szőlőt termesztenek és a fiatal hajtásokon fordul elő a vegetációs időszak korai szakaszában (Phillips, 1998). Larignon et al. (2001a; c).

Az egészséges növény minden részében megtalálhatóak a *Botryosphaeria* fajok. Jelenlétük növekszik, ha a növényt stressz hatás éri, illetve nagyobb mennyiségű csapadék esetén (Johnson et al., 1991; 1992).

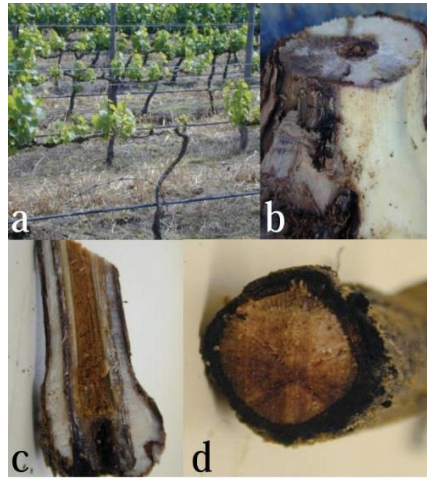
2.4 Feketeláb betegség

A feketeláb betegség (black foot disease) oltványiskolákban, valamint az ültetvényekben is jelen lehet (Halleen et al., 2006).

Elsődleges kórokozói az *Ilyonectria destructans* (Zinssm.) Rossman, L. Lombard & Crous (2015) (syn.: *Cylindrocarpon destructans* (Zinssm.) Sholten (1964); *Ramularia destructans* (Zinssm.) (1918), a *Cylindrocarpon macrodidymum* Schroers, Halleen & Crous (Halleen et al., 2004) és az *Ilyonectria macrodidyma* Halleen, Schroers & Crous (2011); *Neonectria macrodidyma* Halleen, Schroers & Crous (2004). Ezen kívül további két fajt azonosítottak a betegséggel kapcsolatban: a *Campylocarpon fasciculare* Halleen, Schroers & Crous (2004) és a *Campylocarpon pseudofasciculare* Halleen, Schroers & Crous (2004) fajokat (Halleen et al., 2004).

A betegséget Franciaországban először 1961-ben írták le (Maluta és Larignon, 1991). Ezt követően a betegséget Taszániában (Schweetingham, 1983), Szicíliában (Grasso, 1984), Portugáliában (Rego, 1994; Rego et al., 2000; 2001) is megtalálták. Az Egyesült-Államokban, Pennsylvániában a betegséget Gugino és Travis (2003) azonosították. Szicíliában (Grasso és Magnano di San Lio, 1975) és Kaliforniában (Scheck et al., 1998a) a *Cylindrocarpon obtusisporum* Cooke & Harkn., Wollenw. (1916) (jelenlegi név: *Neonectria obtusispora* Cooke & Harkn., Rossman, L. Lombard & Crous (2014) (syn.: *Fusarium obtusisporum* Cooke & Harkn. (1884)); *Ramularia obtusispora* Cooke & Harkn., Wollenw. (1916) fajt találták. Ezen kívül számos ismeretlen *Cylindrocarpon* sp. azonosítása történt a fiatal, valamint az elhalást, bazális rothadást és gyökér nekrozist mutató tőkékől Chilében (Auger et al., 1999), Görögországban (Rumbos és Rumbou, 2001), Spanyolországban (Armengol et al., 2001), Dél-Afrikában (Fourie et al., 2000; Fourie és Halleen, 2001) és Ausztráliában (Edwards és Pascoe, 2004).

Sweetingham (1983) írta le először Taszániában, hogy a betegség az 5 vagy annál idősebb ültetvényekben fordul elő és a jellegzetes tüneteket a *C. destructans* faj okozza.



7. ábra: Fekete láb betegség tünete

(Halleen et al., 2006)

(a: gyenge hajtásnövekedés, b: fekete elszíneződés a fás szöveten, c: hosszirányú vaszkuláris csíkozódás, d: gyökérelváltozás)

A tünetek a vegetációs időszak elején tapasztalhatóak. Az új hajtások gyenge növekedést mutatnak vagy nincsenek (7/a. ábra), ennek következtében a nyár közepére elpusztul a növény (Halleen et al., 2006). Ezen tünetek mellett a hajtások rövid internódiumokkal, kis levelekkel rendelkeznek, melyeken érközi klorózis, nekrózis, rügyhiány és gyökérelváltozás (7/d. ábra) figyelhető meg a vegetációs időszakban (Halleen et al., 2006).

A fás szöveten fekete elszíneződés (7/b. ábra) (Scheck et al., 1998b; Halleen et al., 2006), valamint barnás színű, sötét csíkok figyelhetőek meg az alanyok esetén (Rego et al., 2000). A *Cylindrocarpon* fajok a fiatal növényeken hosszanti irányú, vaszkuláris csíkozódást (7/c. ábra) okoznak (Halleen et al., 2006). Rego et al. (2000) megállapították továbbá, hogy az idősebb növényeken, a szőlőalanyok bazális részén *C. destructans* kórokozó található.

Scheck et al. (1998b) Kaliforniában ezeket a tüneteket fiatal, 2-5 éves ültetvényekben írták le.

Larignon (1999) szerint azonban a betegség a 2-8 év közötti ültetvények esetén fordul elő. Gubler et al. (2005) Kaliforniában végeztek kísérleteket és megállapították, hogy a fekete láb betegség az ültetvények 10 éves koráig fordul elő.

Az oltványiskolákban tipikus tünet a levélerezet csíkossága (Grasso és Magnano di San Lio, 1975). Az oltványokon fekete elszíneződés és a xylemben az alanyoknál gumyszerű zárványok találhatóak. Hallen et al. (2006) szerint a sötét elszíneződés a törzs talajközeli részén volt megfigyelhető, mely a talajszint fölött 15 cm-re volt és a törzs földalatti részéig terjedt. Előfordulhat azonban, hogy a nagyobb gyökereken is megjelenik az elszíneződés. Mikroszkópos vizsgálat során a fertőzött, fás szövetben gombafonalakat találtak, melyek a funkcionális háncsban nem voltak jelen.

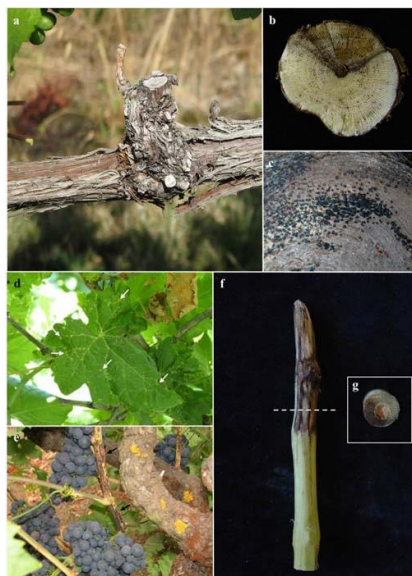
2.5 *Phomopsis* fajok okozta elhalás

A *Phomopsis* fajok okozta elhalást (*Phomopsis dieback*) Magyarországon először Lehoczky írta le 1969-ben egy villányi ültetvényben. A betegség különösen gyakori a kanadai Brit Columbiában Borvidéken.

A *Diaporthe perijuncta* Niessl. (1846) (Rawnsley et al., 2004), *P. viticola* Sacc. (1905), (syn.: *Diaporthe neoviticola* Udayanga, Crous & K.D. Hyde (2012)) és a *Diaporthe ampelina* Berk. & M.A. Curtis R.R. Gomes, Glienke & Crous (2013) (Gomes et al., 2013; Dissanayake et al., 2015) fajok okozhatják a megbetegedést.

Kozmopolita fajok, melyek gyökérrothadást, gyümölcsrothadást és a fás szövet elhalását okozzák (Uecker, 1988).

A *Phomopsis viticola* által okozott betegséget az 1920-as évek elején és az 1960-as évek közepén jelentették szinte minden szőlőtermesztő régióban: az Egyesült Államok keleti részén, Kanada (Coleman, 1928; Anderson et al., 1943; Braun, 1961; Barnes, 1963; Chamberlain et al., 1964; Willison et al., 1965), Kalifornia (Hewitt, 1935), Japán (Hiura, 1924) és Dél-Afrika (Du Plessis, 1938) területein. *D. perijuncta* a satnya hajtásokat, valamint leveleken és más hajtáson lévő tüneteket okoz (Rawnsley et al., 2004). Kaliforniában a *Phomopsis velata* (Sacc.) Traverso, 1906 (syn.: *Diaporthe ambigua* Nitschke (1870)), a *Diaporthe eres* Nitschke (1870) és a *D. neotheicola* A.J.L. Phillips & J.M. Santos (2009) fajokat találtak a betegségre jellemző tünetet mutató fás szövetben (Úrbez-Torres et al., 2013). Magyarországon a Tokaji Borvidékről *D. eres* fajt azonosítottunk tünetes növényekről (Kovács et al., 2014b). Willison et al. (1965) és Baumgartner et al. (2012) eredményeinkhez hasonlóan a szőlőn a *D. eres* előfordulásáról számoltak be. Phillips (2002) vizsgálatai során az elhalt szövetből *B. parva* és *B. obtusa* fajokat izolált.



8. ábra: *Phomopsis* fajok okozta elhalás

(Úrbez-Torres et al., 2013)

(a: csökkent hajtásnövekedés, b: nekrózis a fás szöveten, c: piknídiumok a kordonkaron, d: levéltünet, e: *Phomopsis* sp. okozta tünetek a vesszőn, f: vaszkuláris elszíneződés a fás szöveten)

Az elhalt kérgen, a kéreg alatt és a fás szöveten jelennek meg a piknídiumok (**8/c. ábra**). A beérett szőlővessző kifehéredik, melynek felületén szintén megtalálhatóak a piknídiumok (**8/e. ábra**) (Varga, 2009; Úrbez-Torres et al., 2013). A fás szöveten ék alakú barnás elváltozás látható (**8/b. ábra**).

A beteg növény csökkent hajtásnövekedést mutat (**8/a. ábra**), a hajtáson és a levélnyélén sötét, üszkös, szabálytalan alakú, barnás elváltozások láthatóak (**8/e., 8/f. ábra**), melyek hosszirányú, beszáradó repedésekké válnak (Úrbez-Torres et al., 2013). A micélium a zöld hajtásokban főként a kéreg parenchima szövetében található.

A leveleken lekerekített, szabálytalan, zöldes-sárga klorotikus foltok jelennek meg (**8/d. ábra**), melyek később nekrotizálódnak (Reddick, 1909; Úrbez-Torres et al., 2013). Bogyókon a tünet csak a szüret közeledtével jellemző (Anco, 2011). A gyümölcsrothadás termés kiesést eredményez (Pscheidt et al., 1989; Erincik et al., 2001).

Gubler és Leavitt (1992) szerint a cv. Grenache fajta nagyon érzékeny az esős tavaszi időszakban a betegségre.

A konídiumok esős, nedves időben fertőzik a fás szövetet. Ilyenkor a konídiumok esőcseppekkel csapódnak a metszési sebek felületére. A növény felületén lévő szabad víz elősegíti a konídiumok csírázását (Pearson et al., 1988; Pscheidt et al., 1989).

2.6 A tőkeelhalás elleni védekezési lehetőségek

A tőkeelhalás megelőzése több szempontból is nehézségbe ütközik. Egyrészt nem ismerünk a betegséggel szemben kevésbé fogékony szőlőfajtát, másrészt jelenleg nincs hatásos védekezési lehetőség ellene (Bertsch et al., 2013). A védekezést nehezíti az is, hogy többféle, egymástól fiziológiailag jelentősen eltérő kórokozó gomba is részt vehet a betegség kialakításában, melyek a fertőzést követően a növény belső, fás szöveteiben találhatóak (Bertsch et al., 2013).

Korábban a nátrium-arzenitet alkalmazták Nyugat-Európában általánosan a betegség elleni védekezésben (Larignon és Dubos, 2001a, Lehoczky, 1974; 1988), de karcinogén és környezetre gyakorolt káros hatásai miatt betiltották (Mugnai et al., 1999; Decoin, 2001; Lyubun et al., 2002). Betiltását követően 50%-kal megnőtt az esca fertőzöttség néhány olasz borvidéken (Surico et al., 2006; Bertsch et al., 2009).

A kémiai növényvédő szerek alkalmazásán kívül a betegség ellen a különböző biológiai védekezésben alkalmazható baktérium és gomba törzsek vizsgálata is folyik. A biológiai védekezés gazdaságos és hatékony megoldást jelenthet a növények belső, fás részeiben megtalálható kórokozók ellen (Gupta és Dikshit, 2010). Kutatások bizonyítják, hogy a kémiai eredetű peszticidek csökkentésével és egyes biopeszticidek használatával növelhető a talaj termelékenysége, valamint a termés hozam (Verma et al., 2007; Vinale et al., 2008; Nagamani és Chakravarthy, 2009; Leng et al., 2011; Sharma et al., 2011).

A *Bacillus subtilis*, *Fusarium lateritium*, *Cladosporium herbarum* és a *Trichoderma* sp. is alkalmazhatóak biokontroll törzsekként a metszési sebek védelmére az *E. lata* askospóráival szemben (Carter, 1991; Ferreira et al., 1991; Grameje et al., 2012).

Carter és Price (1975) vizsgálataiban biokontroll törzseket együttesen alkalmaztak fungicidekkel. A benomil és a *F. lateritium* együttes kezelése esetén azonban nem találtak szignifikáns különbséget a külön-külön alkalmazással szemben. Véleményük szerint a biokontroll törzsek megtelepedéséhez 1-2 hét is szükséges.

A *Trichoderma* fajok fás betegségek elleni védekezésben nyújtott szerepét Weindling már 1932-ben leírta. A *Trichoderma* (*Hypocrea*) fajok talajlakó mikoparaziták, melyek antagonistárával rendelkeznek és mikotoxikus vegyületeket termelnek a különböző patogének ellen (Kubicek et al., 2007). Egyes *Trichoderma* törzsek növelik a kórokozókkal szembeni ellenállást a növény szisztémás és lokális védekezésének indukálása révén. Egyes fajok pedig a növény növekedését, fejlődését és a tápanyagfelvételt is elősegítik (Harman et al., 2004). Szekunder metabolitok termelésével

megakadályozzák a patogének spóráinak csírázását, emellett sejtfalbontó enzimeik segítségével elpusztítják a gombasejteket. Tevékenységükkel hozzájárulnak a talaj savanyításához, így egyes kórokozók nem képesek a talajban élni (Benítez et al., 2004). Hunt et al. (2001) szerint a *Trichoderma* mikoparazita képességüknek köszönhetően hatékonyan alkalmazhatóak a tőkeelhalás ellen. A metszési sebek védelmére irányuló megelőző lehetőségként is alkalmazhatóak (Kotze et al., 2011). Szőlőnél az oltványiskolákban alkalmazott *T. harzianum* törzsek elősegítették az oltványok gyökeresedését, emellett a kezelés hatására az esca betegség is csökkent (Fourie et al., 2001). Magyarországi oltványiskolákban Kun és Kocsis (2014) kutatásuk során oltványokat kezeltek tiofanát-metil és tiram hatóanyaggal, melyek jelentősen csökkentették a *Pa. chlamydospora* és a *Pm. minimum* okozta fertőzöttséget. Az esca betegség kialakulásában részt vevő *Pa. aleophilum* és a *Pm. chlamydospora* kórokozók ellen a *Trichoderma* kezelés hatékonynak bizonyult (Di Marco et al., 2004). A *Trichoderma* fajok parazitálnak több *Botryosphaeria* fajt (KeXiang et al., 2002; Chen et al., 2003). Halleen és Fourie (2005) szerint a *Trichoderma* a metszési sebeken kolonizálódik.

Az *E. lata* okozta elhalás esetén kulcsfontosságú a metszés időpontjának meghatározása, hiszen az aszkospórák a téli és a tavaszi időszak csapadékos időjárásának köszönhetően kiszabadulnak a peritéciumból és a metszési sebeken keresztül bejutnak a fás szövetbe (Ramos et al., 1975b; Trese et al., 1980; Carter, 1988; 1991; John et al., 2005; Gubler et al., 2005; Weber et al., 2007; Sosnowski et al., 2008; Rolshausen et al., 2010). Lecomte és Bailey (2001) szerint a téli és a tavaszi metszés közötti különbséget, a konídiumok kiszabadulásának környezeti körülményektől függő eltérő időpontja okozza. Bizonyították továbbá, hogy a spórák csírázókéességét a szövetben lévő belső környezet határozza meg. A fás szövet érzékenysége függ a benne lévő mikroflóra jelenlététől is, melyek befolyásolhatják az *E. lata* fertőzőképességét. Kutatásokkal alátámasztották azt is, hogy Bordeaux területén a tavasszal történő metszés során a növények kevésbé kitéttek a betegségnek, mint a téli, csapadékosabb időszakban (Munkvold és Maoris, 1995). Ilyenkor a növényben a nedváramlás is korlátozhatja a spórák megtapadását és kevésbé jellemző az aszkospórák kiszabadulása is (Trese et al., 1980; Petzholdt et al., 1981; Dubos, 2002; Dumot, 2003). A betegség ellen alkalmazhatóak fungicidek is a metszési sebek védelmére (Sosnowski et al., 2008; Rolshausen et al., 2010; Pitt et al., 2012; Diaz és Latorre et al., 2013). Gubler et al. (2005) szerint a DuPont által forgalmazott Benlate (benomil) csökkentette az *E. lata* okozta elhalást, azonban hosszú távú védelmet nem

tudtak elérni a használatával. Kutatásaik során vizsgálták a bórsav hatékonyságát is a metszési sebek kezelésekor. Megállapították, hogy a bórsav csökkentette az *E. lata* aszkospóráinak csírázását és a micéliumok növekedését. Hatékonysága egy éves növények kis metszési sebeinek kezelése esetén volt optimális. Ausztráliában a Greensealt az aszkospórák ellen fejlesztették ki a metszési sebek felszínének kezelésére. Ez a fungicid 10% tebukonazolt tartalmaz, emellett klórtalonilt, fluzilazol, bórsav, proklorazpirimetanil és fluazinam hatóanyagokat (Munkvold és Marois, 1993; Ramsdell, 1995; Lecomte et al., 2003; Halleen és Fourie, 2005; Rolshausen és Gubler, 2005; Sosnowski et al., 2008; Halleen et al., 2010; Rolshausen et al., 2010). Sosnowski et al. (2008) szerint az azoxistrobin és a trifoxistrobin *in vitro* körülmények között gyenge hatékonyságú a betegség csökkentésére. A pirimetanil alkalmazása a micéliumok növekedését nem csökkentette (Sosnowski et al., 2008; Halleen et al., 2010; Gramaje et al., 2012). Creasar és Wicks (2004) szerint a beteg tőkék visszavágása és ezáltal az új tőketörzs nevelése hatékony lehet a betegség csökkentésére. Az angolszász irodalomban ezt „renewals” vagy „remedial surgery”-nek nevezik. Közép és hosszú távú kutatásaik során bizonyították, hogy a visszavágott tőkékből képződött hajtások a megújítást követő 3 év után nem mutatták a betegségre jellemző tüneteket. Sosnowski et al. (2011) szerint pedig a megújítást követő néhány éven belül helyreáll a növény megfelelő hozama.

Kutatások bizonyítják, hogy az esca és a *Botryosphaeria* fajok okozta betegség tüneteinek megjelenése a csapos metszés esetén magasabb volt a Guyot művelési móddal szemben (Dumot, 2010; Dumot et al., 2012). Cahurel (2009) kutatásában azonban ezt cáfolta. Cahurel (2009); Dumot (2010) és Dumot et al. (2012) megállapították, hogy a tünetek megjelenése azon területeken gyakoribb, ahol az ültetési sűrűség alacsonyabb. Pitt et al. (2008) a *Botryosphaeria* fajok ellen *in vitro* körülmények között a fludioxonil, penkonazol és az iprodion fungicideket alkalmazták.

A fungicides kezelés esetén Wunderlich et al. (2011) a teljes vegetációs időszakban történő védekezésre hívták fel a figyelmet. Úrbez-Torres (2011a) szerint a védekezési lehetőség a fertőzött növény eltávolítása. A *Botryosphaeria* fajok okozta elhalás esetén az iprodion a benomil a kaptán és a penkonazol hatóanyagok csökkentették a *L. theobromae* metszési sebekben keresztül történő fertőzését.

2.7 A tőkebetegségben szerepet játszó általunk is kimutatott kórokozók taxonómiai bemutatása

2.7.1 *Diplodia mutila*

A fajt először Fries (1823) írta le, majd Stevens (1933) és Sutton (1980) is beszámoltak a faj jelenlétéről. Fekete kordonkar elhalást okozó kórokozóként először Lehoczky írta le Magyarországon 1974-ben. Millholland (1991) úgy vélte a *B. stvensii* (syn.: *B. dothidea* (Moug.: Fr.) Ces. & De Not. az érő bogyók rothadását okozza. Kuo et al. (1989) Tajvanon pedig azt találták, hogy a *B. dothidea* (*Botryosphaeria ribis* Gross. & Duggar fajként) fűrtrothadást okoz. Filho et al. (1995) kutatásuk során arról számoltak be, hogy a faj a szőlő rákosodását okozza. Braziliában. Phillips (1998) pedig exkoriózist okozó kórokozóként azonosította Portuguese fajtán. Leírta azt is, hogy néhány virulens törzse elhalást okoz.

Az aszkómája egy kamrás, mely képződhet önmagában vagy csoportosan, érett állapotban gömb alakú, legfeljebb 300 µm átmérőjű, sötétbarna vagy fekete színű, vastag falú, kétrétegű (Phillips et al., 2013). A külső rétege sötétbarna, vastag falú, a belső réteg vékony falú és átlátszó. Az osztólum (ostiole) központi, kör alakú, szemölcsös és perifériás. A pszeudoparafizis egy steril hifa, mely átlátszó, elágazó, szeptált, 2-3 µm nagyságú. Az aszkuszok bunkó alakúak (clacate), szárasok (stipitate) és kettős falúak (bitunikatus). A méretük 100-160×14-22 µm. Az aszkospórák szabálytalanok, két sorba rendeződtek, tömlőnkénti számuk nyolc. Az aszkospórák orsó alakúak (fusiform), átlátszóak, vékony falúak, simák és aszeptáltak, ritkán világosbarnák is lehetnek és 1-2 válaszfallal rendelkezhetnek. 28-35×10-13 µm nagyságúak. A konídium termőteste (konidiomata) egyedül vagy csoportosan elhelyezkedő, érett sötétbarna vagy fekete színű. Gömbszerű alakkal rendelkezik, akár 600 µm átmérőjű is lehet. Fala három rétegből tevődik össze: egy külső rétegből, mely sötétbarna, vastag falú, egy középsőből, mely szintén sötét színű, de vékony falú, valamint egy belső rétegből, mely vékony falú, hialinos (Phillips et al., 2013). Konídiumtartóval nem rendelkezik. A konidiogén sejtek mindkét fala részt vesz a konídiumok képzésében (holoblasztikus) (Kövics et al., 2009), melyek átlátszóak, sima felületűek, periklinálisak, 11-15×4-5 µm nagyságúak. A *D. mutila* konídiumai átlátszóak, válaszfalakkal nem tagoltak, sima, vastag falúak. Végeik lekerekítettek. Az idősebb konídiumok szeptáltak is lehetnek. A konídiumok mérete 24-27×13-14 µm között alakulnak (Phillips et al., 2013).

2.7.2 *Diplodia seriata*

A gombát először Schweinitz (1832) írta le, mint *Sphaeria obtusa* Schwein., majd Cooke (1892) *Physalospora obtusa* Schwein. fajként nevezte el. Végül Shoemaker (1964) *Botryosphaeria* Ces. & de Not. *B. obtusa* fajként írta le. A teleomorf és az anamorf alak közötti kapcsolatról először Hesler (1916) majd Shear et al. (1925), majd később Stevens (1936) írtak. Teleomorf alakja a *B. obtusa*. Magyarországon Horváth és Schweighardt (1991) kutatásukban írták le, mint nektróizist kiváltó kórokozót. Crous és Palm (1999), valamint Denman et al. (2000) kezdték el a rendszertani besorolásukat.

Crous et al. (2006) és Phillips et al. (2007) megállapították, hogy a *Botryosphaeria* elnevezés a *Diplodia* és a *Fusicoccum* anamorf típusú kórokozók esetében nem alkalmazható. A termőtest (aszkóma) sztrómával rendelkezik (sztromatikus). Fürtös konídiumképzés jellemzi (botryose), mely akár 3 mm széles is lehet. Az aszkuszkok képződése lehet kettősfalú (bitunicatus) és széthasadó (fissitunicatus). Az aszkusz (tömlőszerű képződmény) bunkó alakú (clavate), mérete 90-120×17 µm. Az aszkuszkok a pszeudoparafízisek között nőnek (Phillips et al., 2013). A pszeudoparafízis átlátszó, elágazó, szeptált, 2-3 µm széles steril hifa, melyek az aszkosztróma közepének csúcsánál erednek és lefelé nőnek a központ aljáig, ahol elegyednek az aszkuszképző (aszkogén) rendszerrel (Kövics, 2009; Phillips et al., 2013). Az aszkospórák szabálytalan két sorba rendeződött spirális képződmények. Tömlőnkénti számuk nyolc. Az aszkuszkok kissé elvékonyodóak (fuzoid), középen a legszélesebbek, sima, átlátszó, harántfal nélküliek. Méretük: 25-30×7-12 µm. A konídium termőtest (conidiomata) sztromatikus, nem szemölcsös, sötétbarna vagy fekete. A konidiogén sejtek, melyek létrehozzák a konídiumot átlátszóak, simák, vékony falúak. Ezeknek a sejteknek a mérete: 5,5×7-10 µm (Phillips et al., 2013). A konídiumok viszonylag vastag falúak, lehetnek átlátszóak és barnák, valamint lehetnek szeptáltak és harántfal nélküliek is. Tojásdad alakúak, mindkét végük lekerekített. A konídiumok kezdetben átlátszóak, majd egyre sötétebbé válnak. A későbbi konídiumok képződhetnek periklinálisan (nem fedi teljesen a külső szövetréteg a belsőt). A külső falak simák, a belső falak felülete érdes, szemölcsös. A spórák közepén vastagok (0,5 µm) (Phillips et al., 2013).

2.7.3 *Diaporthe* sp.

Az új nevezéktan elkészítését korábban Santos és Phillips (2009) vetették fel. Javaslaik alapján az anamorf alakok helyett a régebbi elnevezés, a teleomorf alakok (*Diaporthe* 1870) alapján kellene a taxonómiai besorolást elvégezni. Uecker (1988) kutatása során minden *Diaporthe* (Nitschke) fajt *Phomopsis* fajként írt le. A fajokat Rechner és Uecker (1994) gyökérből, hajtásból, levélről és gyümölcsből izolálták. A betegségek megnevezése esetén azonban gyakrabban az anamorf (*Phomopsis*, 1905) elnevezést alkalmazzák (Udayanga et al., 2011). A *Diaporthe* (Nitschke) fajok rendszertani besorolásának felülvizsgálatát Gomes et al. (2013) és Udayanga et al. (2011) kezdték el multigén analízissel. Cinelli et al. (2016) *D. eres* (anamorf: *Phomopsis oblonga* (Desm.) Traverso, Fl. ital. crypt., Pars 1. (1906), jelenlegi név: *P. velata* (Sacc.) Traverso, Fl. ital. crypt., Pars 1. (1906)) fajt izoláltak 2014-ben *Vitis vinifera*-ról. Gyümölcsrothadást és levélfoltosságot, elhalást, rákosodást okozó kórokozók (Uecker 1988; Van Rensburg et al., 2006; Santos et al., 2011; Thompson et al., 2011; Hyde et al., 2014). Szőlőről jelenleg 10 fajt azonosítottak (Mostert et al., 2001). A betegség minden szőlőtermesztő országban megjelenik, legfontosabb kórokozó a *P. viticola*, melyet először 1880-ban Saccardo írt le, a fajt szőlővesszőről azonosította (Punithalingam, 1979). A *P. viticola* fajt később Cooke 1885-ben *Phoma vinifera* Cooke fajként írta le.

Wehmeyer (1933) szerint a *D. eres* fajnak számos szinonimája van: *Phoma*, *Phomopsis*, *Sphaeria* és *Valsa* sp. A fajt több mint 60 gazdanövényről írta le. Egyes szerzők szerint egy komplex faj (Farr és Rossman, 2011). A rendszertani besorolásuk nehézkes, mely megoldásra vár (Claydon et al., 1985; Dvořák et al., 2006; Farr és Rossman, 2011).

Cinelli et al. (2016) leírták, hogy a fás betegségekre utaló jeleket az 1 éves vesszőn látható sötét foltok, valamint az elhalt rügyek mutatták. A krémfehér cseppekből konídiumok oltását követően egy héttel morfológiailag vizsgálták a piknídiumokat és az α és β konídiumok jellemzőit. Megállapították, hogy az α konídiumok egysejtűek, áttetszőek, orsó alakúak (fusiform), egyik vagy mindkét végük kúpos (Cinelli et al., 2016). Méretük átlagosan $7,96 \pm 1,29 \mu\text{m} \times 2,16 \pm 0,22 \mu\text{m}$. A β konídiumok sejtáltak, elvékonyodóak, alakjuk változatos, ívestől a horgas formáig megtalálhatóak. Méretük jóval nagyobb, mint az α konídiumoké, átlagosan: $26,15 \pm 2,33 \mu\text{m} \times 1,37 \pm 0,14 \mu\text{m}$ nagyságúak (Cinelli et al., 2016).

2.8 Endofita fajok jelenléte a tünetes növényekben

A szőlőnövény különböző részeinek (gyökér, alanyra oltás, törzs, kordonkar, vessző) nektrotikus fás szövetében a GTD kórokozókon kívül számos más nem patogén gombafaj is megtalálható.

Franciaországban Larignon és Dubos (1997) 30 szőlőfajta vizsgálata során a nektrózist mutató növényekből, enyhe elszíneződést mutató különböző zónákból való mintavételt követően *Penicillium* sp., *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp. fajokat mutattak ki. A sötét elszíneződést mutató központi részben *Epicoccum* fajok azonosítása történt.

Bordeauxban Laveau et al. (2009) vesszőből az említett endofita fajok mellett *Epicoccum* sp., *Aspergillus* sp. és *Fusarium* fajokat találtak, melyeket szaprofitáknak tekintettek. Larignon et al. (2001c) BDA tipikus tünetét, a barna csíkosságot mutató tőkékben vizsgálták az endofiták előfordulását.

Görögországban, Rumbos és Rumbou (2001) a tőkebetegséggel kapcsolatban vizsgálták az alanyt és a nemest és abban a korábbiakban említett endofita fajok jelenlétét tudták igazolni.

Úrbez-Torres (2006a) hajtás, kordonkar, törzs vizsgálata során rákosodást mutató sebeken szórványosan *A. alternata* fajt izolált Kaliforniában.

Mohammadi és Banihashemi (2007) *Fusarium*, *Aspergillus*, *Phoma* és *Penicillium* fajokat izoláltak Délkelet Iránban Fars tartományban 10 évnél idősebb, illetve fiatalabb nektrózist mutató fás szövetből (törzs). *L. theobromae* és *N. parvum* GTD patogének inokulálását követően Chardonnay és Cabernet Sauvignon fajtákban *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. és *Epicoccum* fajokat találtak a fás szövetben (Úrbez-Torres és Gubler, 2011c). Kaliforniában továbbá *Botrytis cinerea* kimutatása is történt a fás szövetből (Úrbez-Torres, 2011a).

Irak Kurdisztán régiójában kordonkARBól és vesszőből *Alternaria alternata* és *Phoma* fajokat izoláltak a nyári mintavételi időszakban (Haleem et al., 2013). *Fusarium* és *Trichoderma* fajok a gyökérben és a kordonkarban fordultak elő. Az említett nem GTD kórokozókon kívül minden vizsgált régióban találtak *Epicoccum* sp., *Penicillium* sp. és *Aspergillus* fajokat.

Moreno-Sanz et al. (2013) *Alternaria* fajok jelenlétét a vesszőben és a törzsben azonosították. Ezen kívül legnagyobb gyakorisággal *Fusarium* sp. is sikeresen izolált faj volt az összes vizsgált régióban. *Penicillium* sp. jelenléte a gyökérben, törzsben és vesszőben volt igazolható. *Trichoderma* fajok tekintetében a legnagyobb arányú

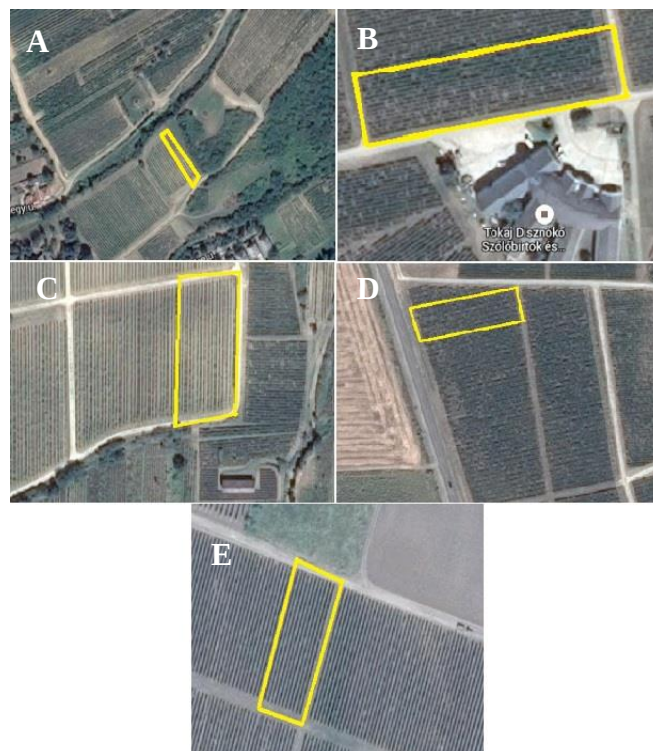
előfordulás a vesszőben és a törzsben volt, kis mértékben a gyökér régióban is előfordult (Moreno-Sanz et al., 2013). Huertas-Nebreda et al. (2013) kutatásaik során megállapították, hogy a spanyol szőlőkben nem GTD kórokozók közül legnagyobb arányban a *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. kimutatható, azonban ezen kívül még *Epicoccum* sp., *Aureobasidium* sp., *Aspergillus* sp és *Mucor* sp. is jelen volt. Szicíliában Mondello et al. (2013) tüneteket mutató fás szövetből kimutatta a korábbiakban már leírt fajokat, melyeket szaprofitaként és farontó gombaként írtak le. Oltványokban Dél-Afrikában Halleen et al. (2003) *Phoma* sp., *Fusarium* sp. és *Trichoderma* sp. jelenlétét mutatták ki a betegséget okozó kórokozók mellett.

Katalóniában Luque et al. (2014) vesszőből *Alternaria* sp., *Aureobasidium* sp, *Aspergillus* sp., *Epicoccum* sp. és *Penicillium* fajokat izoláltak. Spanyolország északi részén a törzs mellett gyökér és vessző endofita közösségét is vizsgálták.

Endofitaként Algériában Ammad et al. (2014) tünetet mutató növény nekrotikus törzsének fás szövetéből nagy arányban izoláltak *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Botrytis* sp. és *Penicillium* fajokat.

A morfológiai és molekuláris vizsgálatok mellett Bruez et al. (2014) metagenomikai elemzéssel szintén igazolták ezen fajok jelenlétét nem csak a tünetet mutató, hanem a tünetmentes növényekből egyaránt. Megfigyelték továbbá, hogy az említett endofiták jelenléte főként a tünetet mutató növényekben gyakoriak a *Fusarium* fajok kivételével, melyek a tünetmentes növényben gyakrabban fordultak elő.

Dél-Olaszországban Carlucci et al. (2015) is hasonló endofiták előfordulásáról számoltak be betegség tüneteit mutató fehér és vörös fajták esetén. A vizsgált ültetvények hasonló korúak voltak, mint, amelyeket mi is vizsgáltunk.



10 ábra: Vizsgált dűlőkön beállított kísérletek műholdas felvétel
(Bakonyi (A), Dorgó (B), Szarvas (C), Szemere (D), Várhegy (Patrícus) (E) dűlő)
(Kovács, 2016)

Az egyes ültetvények eltérő korúak voltak. Minden szőlőültetvényen csak egy szőlőfajta volt, kivéve a Bakonyi (4) dűlőt, ahol két fajta, Furmint (4F) és Hárslevelű (4H) is található.

Az alany a Furmint és a Hárslevelű fajták esetén megegyezett, a Zéta fajtánál 125AA alanyra történt a nemes oltása (**1. táblázat**).

1. táblázat: Mintavételi helyek jellemzői a Tokaji Borvidéken

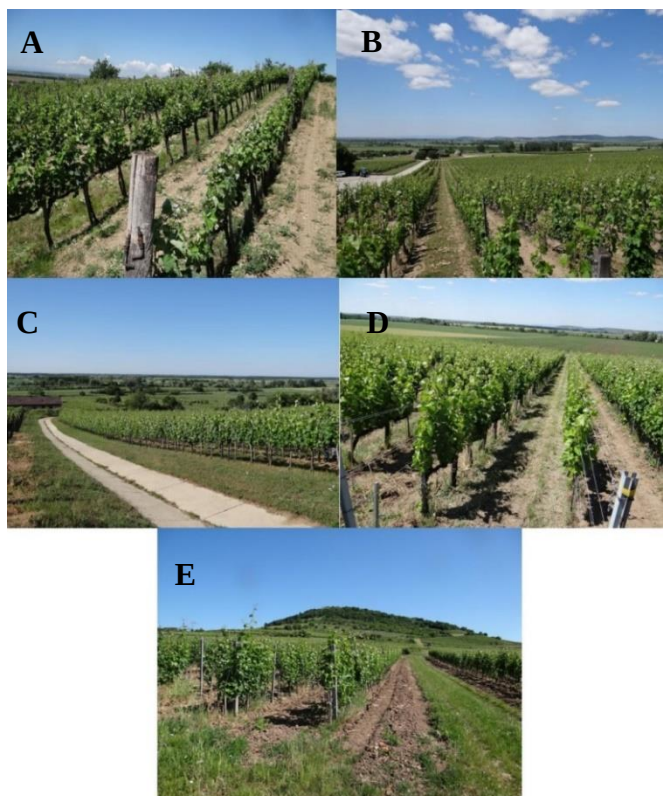
Dűlő sorszáma	Vizsgált dűlő megnevezése	Telepítés éve	Alany	Fajta
1	Szemere	1999	Teleki 5C	Furmint
2	Dorgó	1994	Teleki 5C	Furmint
3	Várhegy	2003	125AA	Zéta
4	Bakonyi	1992	Teleki 5C	Furmint (F) Hárslevelű (H)
5	Szarvas	2003	Teleki 5C	Hárslevelű

A Bakonyi (4) és Szarvas (5) ültetvények talaja lösz, míg a Szemere (1), Dorgó (2) és Várhegy (3) ültetvényeké erdőtalaj eredetű lejtőhordalék. Az egyes területek közép-magas kordon művelésűek, kivéve a Szemere (1), mely Guyot művelésű terület (**2. táblázat**). Az egyes ültetvények eltérő lejtésűek voltak (5-8%) (**11. ábra**). A Bakonyi dűlő esetén szintvonalas a sorok vezetése, azaz a lejtőre merőleges. Minden sor mikroteraszosan van kialakítva. A többi vizsgált dűlőnél lejtő irányába történő sorvezetés jellemző. A Szarvas dűlőnél a 62. tőkétől egy alacsonyabb fekvésű „teknőszerű” vízgyűjtő területen találhatóak a tőkéek. Ezen elhelyezkedés miatt a Szarvas dűlőnél egy felső (5S) és egy alsó, sík, a hegy lábánál lévő (5L) részre különítettük el a felmérés során a területet.

2. táblázat: A vizsgált dűlők telepítési jellemzői

Dűlő sor-száma	Vizsgált dűlő megnevezése	Egyes területek tájolása és lejtése	Telepítési jellemzők	Talaj	Művelési mód*
1	Szemere	NY tájolás, 2-3% lejtés (7,28°)	2 m × 0,9 m	erdőtalaj eredetű lejtőhordalék	G
2	Dorgó	NY-DNY tájolás, 1-2% lejtés (5,87°)	2 m × 1,2 m		MCD
3	Várhegy	NY-DNY tájolás, 1-2% lejtés (5,38°)	2,2 m × 0,9 m		MCD
4	Bakonyi (F)	K-DK tájolás, 1-2% lejtés (2,79°)	2,4 m × 0,9 m	lösz	MCD
	Bakonyi (H)	K-DK tájolás, 2-4% lejtés (4,12°)			
5	Szarvas	D tájolás, 5-8% lejtés (8,13°)	2,4 m × 0,9 m		MCD

* MCD: közép-magas művelés (KMK); Guyot művelési mód (G)



11. ábra: Vizsgált dűlők lejtése

(Bakonyi (A), Dorgó (B), Szarvas (C), Szemere (D), Várhegy (Patricius) (E) dűlő)

(Kovács, Balling, 2016)

Az időjárási adatok gyűjtése MILLIMET (Boreas Kft., Magyarország) mérőállomás segítségével történt a borvidéken. Az egyes vizsgálati években mért adatokból minden egyes hónapban meghatároztuk a minimum, a maximum és az átlag hőmérsékleteket, valamint a csapadék mennyiségét.

3.2 A betegség kimutatási gyakorisága (DI%) és a mintagyűjtés időpontja

A GTD tünetek megfigyelését a vegetációs időszakban, május és augusztus között végeztük mindhárom vizsgálati évben.

A minták gyűjtése minden évben május és szeptember között történt a jellegzetes, GTD tüneteket mutató növényekről (**3. táblázat**).

Reprezentatív, véletlenszerű mintavétel alkalmazása során minden ültetvény valamennyi sorából 3-3 növény került megmintázásra. A borvidéken gyakori tőkeelhalás betegségcsoport (*esca*, *Botryosphaeria* és *Phomopsis* fajok okozta elhalás) felmérése során a jellemző levél és fás szöveti nekروزist egyaránt mutató növényekről történt a mintavétel a kordonkar fás szövetéből a későbbi elemzésekhez. A minták szállítása hűtött

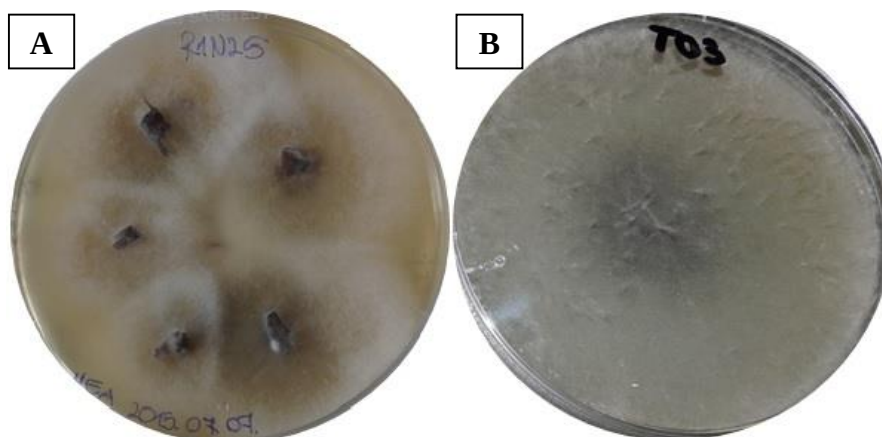
körülmények között (10°C alatt) 48 órán belül történt a Debreceni Egyetem MÉK ÉTI Mikrobiológiai Laboratóriumába.

3. táblázat: Mintavételi időpontok (2013-2015)

Dúló sorszáma	Vizsgált dúló megnevezése	Mintagyűjtés időpontja		
		2013	2014	2015
1	Szemere	Június, Július, Augusztus	Május, Június, Július, Augusztus	Június, Július, Augusztus, Szeptember
2	Dorgó			
3	Várhegy			
4	Bakonyi	Május, Június	Június, Július	
5	Szarvas	Június, Július, Augusztus	Május, Június, Július, Augusztus	

3.3 GTD kórokozók és endofiták izolálása a fás szövetből

A minták előkészítését és a mikrobiológiai vizsgálatokat Abreo et al. (2013) leírása alapján végeztük el. A mintákon a fás részek jellegzetes mintázatu elhalása jól látható volt. A nekrotikus fás szövetet 10%-os Neomagnol (PharmaSwiss Ceská, klorogén-szeszkvihidrá, 1000 mg) oldatban 10 percig fertőtlenítettük, majd kétszer steril desztillált vízzel mostuk. A mosások után a mintákat malátás agarra (MEA, Scharlau, Spanyolország) helyeztük (Crous et al., 2006) (12/A. ábra). 3-5 napos, 25°C hőmérsékleten történő inkubálás után a fejlődő micéliumokból tiszta tenyészeteket készítettünk (12/B. ábra). Az izolátumaink fenntartása ferde agaron 4°C-on és -80°C-on, 20%-os glicerinolddal történt (Kovács et al., 2014c).



12. ábra: Mikrobiológiai vizsgálat

(Minták malátás kivonat agar táptalajon (A), tiszta tenyészet inkubációt követően (B))
(Kovács, 2013)

3.4 Morfológiai és molekuláris biológiai vizsgálatok

A morfológiai azonosítás során a tenyészeteket családok és nemzetségek szintjén sikerült meghatározni. A jellemzésüknél a telepmorfológiát, a konídiumok, konídiumtartók, a termőtest jelenlétét és hiányát illetve ezek legfontosabb jellemzőit (konídiumok alakja, aszkuszok alakja, mérete, termőtest tulajdonságai (színe, felülete) vizsgáltuk (Kovács et al., 2014b).

A molekuláris azonosítást a gombáknál legelterjedtebben használt rDNS régióban található molekuláris markerek, az ITS1 (Internal Transcribed Spacer) és az ITS2 szekvenciák segítségével végeztük (Schoch et al., 2012).

A DNS kinyeréséhez szükséges izolátumok felszaporításához a micéliumot 20 ml burgonya-dextróz folyékony táplevesbe oltottuk és rázógépben, szobahőmérsékleten növesztettük 3 napig (**13. ábra**).



13. ábra: Izolátumok felszaporítása folyékony burgonya-dextróz táplevesben

(Kovács, 2013)

A feltárás előtt a mintát speciális szűrőkendő, Miracloth (Merck) segítségével leszűrtük, majd desztillált vízzel kétszer átmostuk. A mosás után szűrőpapírra helyeztük a gomba micéliumot és a sejtfeltárásig -20°C-on tároltuk. A gombasejtek feltárását folyékony nitrogénben, dörzsmozsárban végeztük (Kovács et al., 2014c).

A gomba micéliumok feltárását a későbbiekben MagnaLyser (Roche Magyarország Kft., Magyarország) készülékkel is végeztük, mely során a mintáinkat feltáró gyöngyöket tartalmazó csövekbe (Roche Magyarország Kft., Magyarország) helyeztük. A készülék 5000 rpm sebességgel, 90 másodpercig végezte a feltárást.

A DNS kinyeréséhez NucleoSpin® Plant II (Macherey-Nagel) kitet alkalmaztunk a gyártó leírása szerint (**1. melléklet**). Az izolált DNS-t 0,8%-os agaróz gélben (TAE pufferrel) futtattuk. A PCR reakcióban GoTaq Green Master polimerázt (Promega) használtunk. A PCR reakciót 25 µl térfogatban végeztük el, amely 12,5 µl GoTaq Green Master polimeráz enzimet (Promega), 0,4-0,4 nmol/µl primereket (IBA, Germany), valamint a 12-50 ng templát DNS-t tartalmazott.

Az endofiták és GTD kórokozók azonosításához a **4. táblázat**ban lévő molekuláris markereket alkalmaztuk.

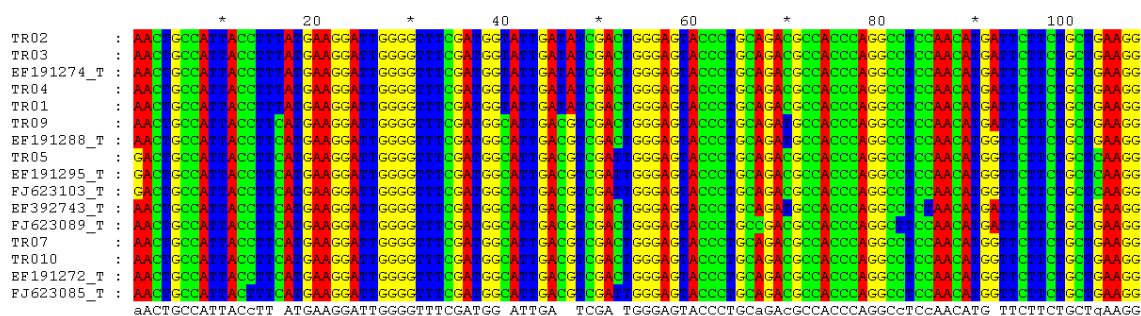
4. táblázat: Endofita és GTD patogének azonosításához alkalmazott molekuláris markerek

Molekuláris markerek	Faj	Primer	Szekvencia	Irodalom	T* (°C)
ITS1/ITS2	Endofita és GTD kórokozó	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	White et al., 1990	53
		ITS5	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG		
	<i>Trichoderma</i> sp.	SR6R	AAGTAGAAGTCGTAACAAGG		50
		LR1	GGTTGGTTTCTTTTCCT		
<i>tef1</i>	<i>Trichoderma</i> sp.	EF1 728F	CATCGAGAAGTTCGAGAAGG	Carbone-Kohn, 1999	59
		EF1 986R	TACTTGAAGGAACCCTTACC		
chi 18-5 (ech42)	<i>Trichoderma harzianum</i>	Chit42-1a	GCTYTCCATCGGTGGCTGGAC	Kullnig és Gradinger et al., 2002	55
		Chit42-2a	GGAGTTGGGGTAGCTCAGC		

*Anelláció hőmérséklet

Beszerezés forrása: IDT, Németország

A szekvenálathoz a PCR termékeket NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up (Macherey-Nagel) segítségével tisztítottuk (**2. melléklet**). A minták DNS koncentrációját Nanodrop 2000 készülék (Thermo Scientific, USA) segítségével határoztuk meg 2 µl térfogatú izolált DNS-oldatból. A koncentráció arányában hígítottuk a beküldéshez szükséges mintákat. A szekvenálást a Microsynth (Ausztria) és az Eurofins MWG GmbH (Németország) végezte. Az izolátumok taxonómiai besorolását a szekvenciák BLAST analízisével határoztuk meg (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, TrichoBLAST <http://isth.info/tools/blast/index.php>) (Altschul et al., 1990; Kovács et al., 2014a). A szekvenciák összerendezését Clustal-X programmal (Higgins és Sharp, 1988; Thompson et al., 1997; Larkin et al., 2007), majd a GeneDoc program segítségével manuálisan végeztük el a szekvenciák finomítását (Nicholas et al., 1997) (**14. ábra**). A pontos összerendezés az alapja az egyes szekvenciák közötti filogenetikai kapcsolatok feltárásának. A filogenetikai törzsfák elkészítéséhez MEGA 6.0 programot használtunk (Tamura et al., 2013).



14. ábra: *Trichoderma harzianum* chi 18-5 génjének szekvencia rendezés részlete

Az ITS szekvenciákat az NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) adatbázisban deponáltuk KU377167-KU377290 nyilvántartási számon (Accession Number) (**3. melléklet**).

3.5 Statisztikai értékelés

A terepi adatgyűjtést és laboratóriumi vizsgálatokat követően adataimat adatbázisba rendeztük és megadtuk az elemzések során használt változók értékeit. A vizsgálat alatt elpusztult tőkék száma igen csekély volt (<1%), így a területeken jelentkező tökehiányt, illetve pótlást a számítások során nem vettük figyelembe.

A vizsgált területek fertőzöttségét (IR - Infection rate [%]) a GTD patogének (*Diaporthe* sp. és *D. seriata*) előfordulási gyakoriságával adtuk meg. Az IR meghatározásához a vizsgált ültetvényekből 2015-ben a növények 3%-ának megfelelő számú random kiválasztott növény mintavételezését végeztük el. Ez alól a Bakonyi (4) dűlő jelentett kivételt, ahol minden évben a teljes terület összes növényét megvizsgáltuk, így az IR meghatározásához a 2015-ben vett teljes minta anyagát használtuk fel. Az egyes területek IR százalékának összesített átlagtól való eltérését binominális teszttel vizsgáltuk.

A betegség előfordulási gyakoriságát (DI - Disease Incidence [%]), az irodalomból ismert módszer szerint, a vegetatív (lomb) tüneteket, vagy elhalást (nekrózis) mutató növények százalékos gyakoriságával adtuk meg (Murolo-Romanazzi, 2014).

A fertőzöttség (IR) és a betegség előfordulási gyakorisága (DI) közötti kapcsolatot korreláció elemzéssel vizsgáltuk. A vizsgált ültetvények IR és a DI alapján való összevetésén túl elemeztük az ültetvény korának, topográfiájának, talajának, az évjáratnak, valamint a szőlőfajtának IR-re és DI-re gyakorolt hatását. Az ültetvény korának hatását a 15 évnél fiatalabb és 15 évnél öregebb, a topográfia hatását a sík és lejtőn lévő, míg a talaj hatását a lösz és erdőtalaj eredetű lejtőhordalékon telepített

ültetvények összevetésével értékeltük. Az évjárat hatását a három vizsgált év (2013-2015), míg a fajta hatását a Furmint és Hárslevelű fajták átlagos IR és DI értékeinek összevetése révén elemeztük. A számításokat az összes vizsgált ültetvény adatait figyelembe véve végeztük, kivéve a fajta hatásának értékelését, ahol a Várhegy (3) dűlőt kizártuk az összehasonlításból az ott telepített eltérő fajta (Zéta) miatt.

A környezeti tényezők hatásának vizsgálatán túl elemeztük a tünetek megjelenésének időbeli állandóságát is. A tünetmegjelenés időbeli stabilitását három stabilitási kategóriával jellemeztük a 2013-2015 között gyűjtött adatok alapján: időszerű – tünetmegjelenés csak egy vizsgált évben volt; rendszeres – a három vizsgált évből kettőben jelentek meg a tünetek; folyamatos – mindhárom vizsgált évben megjelentek a tünetek. A három tünet megjelenési kategória arányát minden terület esetén meghatároztuk és vizsgáltuk a fent említett változók hatását is.

Az adatok normalitását Kolmogorov-Smirnov tesztel, míg a varianciák homogenitását Levene tesztel vizsgáltuk. Tekintettel arra, hogy az adatok nem teljesítették a parametrikus tesztek feltételeit, a csoportok összehasonlítását több kategória esetén Kruskal-Wallis tesztel, páros összevetések esetén Mann-Whitney U-teszt segítségével végeztük (Reiczigel et al., 2007). A statisztikai elemzéseket az SPSS 21.0 programcsomaggal végeztük (Ketskeméty et al., 2011).

Az említett összehasonlító elemzéseken kívül a vizsgált patogének kimutatási hatékonyságát is meghatároztuk a kimutathatóan fertőzött minták összes vizsgált beteg (tünetes) mintához viszonyított arányával.

Az egyes területekről beérkezett tünetes mintákban meghatároztuk az endofita és GTD kórokozó gombák izolációs gyakoriságát (Isolation Incidence - IsI %) is. Az IsI értékét az endofita, illetve GTD patogén gombákat kimutathatóan tartalmazó minták és az összes beérkezett tünetes minta hányadosaként határoztuk meg és százalékos értékben adtuk meg.

3.6 *Trichoderma* fajok micéliális növekedése

Tíz élő, tünetmentes tőkéről izolált *Trichoderma* izolátum micéliális növekedésének vizsgálatát végeztük el. A kísérlet beállítása eltérő hőmérsékleten (5; 12; 18,5; 22,5; 25; 30; 37°C) négy napon keresztül, három ismételtsben történt. A növekedést Petri-csészén, burgonya-dextróz agar táptalajon mért micéliális növekedés alapján, a gombatelep két átmérőjének átlagából határoztuk meg (Kovács et al., 2014 a,d,e,f).

3.7 A különböző *Trichoderma* izolátumok kompetíciós képességének vizsgálata

A *Trichoderma* izolátumok antagonista mikoparazita képességét Szekeres et al. (2006) által leírt módszer alapján vizsgáltuk laboratóriumi (*in vitro*) körülmények között. Dugófúró segítségével 1 cm átmérőjű korongokat vágunk ki az antagonista és a patogén növekedési zónájából. A *Trichoderma* sp. mikoparazita és a *D. seriata*, *N. parvum* GTD patogéneket, valamint eddig szőlőn kórokozóként még nem leírt *Fusarium oxysporum*ot burgonya-dextróz agar (PDA) táptalajon növesztettük. A vizsgálatához 2 napos *Trichoderma* és 3 napos GTD patogén izolátumot alkalmaztunk. Először a patogének leoltását végeztük el, majd 24 órával később a *Trichoderma* izolátumot oltottuk le 3 cm távolságra a kórokozótól. 10 nappal később a tenyészeteket fotóztuk és meghatároztuk a Biokontroll-Index értékét. A Biokontroll-Index (BCI) a *Trichoderma* által elfoglalt terület nagyságának, valamint a *Trichoderma* és a parazitált gomba által együttesen elfoglalt terület nagyságának hányadosa. Segítségével becsülhető a biológiai védekezési képesség mértéke (Szekeres et al., 2006; Kovács et al., 2014a,d,e,f).

3.8 *Trichoderma* spórakészítmény

A szabadföldi kísérletben alkalmazott spórakoncentrátum elkészítéséhez (John et al., 2005) módszerét alkalmaztunk, amihez 7 napos izolátumokat (TR04; TR05) használtunk fel. Az egyes kijuttatásra kerülő izolátumokat tíz-tíz Petri-csészében szaporítottuk fel. Minden Petri-csészébe 2-2 ml steril desztillált vizet pipettáztunk, majd oltókacs segítségével a spórákat a vízbe szuszpendáltuk. A készítmény koncentrációjának ellenőrzéséhez Thoma-kamrát alkalmaztunk. A kijuttatás 2014.05.06.-án a Tokaji Borvidék Szőlészeti és Borászati Kutató Intézet ültetvényében történt. A vizsgálatba egy tünetmentes (XXII. sor 10. tőke) tőkét is bevontunk, mely a betegségre jellemző jellegzetes tüneteket nem mutatta. Ezen kívül két, beteg tőke melletti, szintén tünetes, kontroll tőkét (X. sor 8. tőke, XXIX. sor 13. tőke) is megfigyeltünk, melyeket *Trichoderma* szuszpenzióval nem kezeltünk (Kovács et al., 2014a,d,e,f).

4 EREDMÉNYEK

4.1 A tőkeelhalás jelenlétének alakulása az egyes dűlőkön 2013 és 2015 között

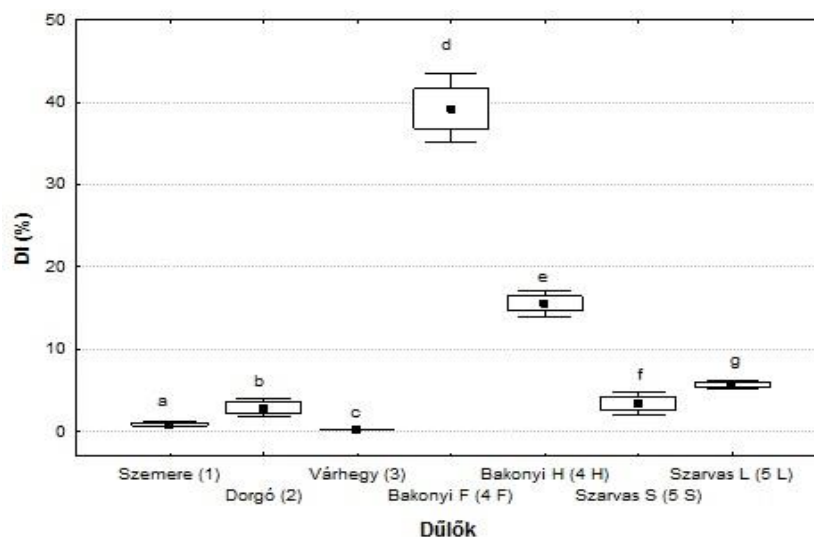
A három vizsgált év alatt összesen 22794 megfigyelést végeztünk az ültetvényekben. A betegség előfordulási gyakorisága, vagyis a GTD tüneteket mutató növények száma szignifikánsan különbözött a szőlőültetvényekben (5. táblázat, 15. ábra). A DI érték 0,17% és 42,11% között változott. Az átlagos DI érték szignifikáns eltérést (Kruskal-Wallis test: $H=19,375$ $df=6$, $n=21$, $p=0,004$) mutatott az egyes ültetvényekben. (15. ábra).

5. táblázat: GTD tüneteket mutató növények száma és a betegség gyakorisága (Disease Incidence (%)) a vizsgált dűlőkön 2013 és 2015 között

Dűlő száma*	Vizsgált dűlő	Megfigyelt növények száma (db)**			Tünetes növények száma (db)			Betegség gyakorisága (DI %)		
		2013	2014	2015	2013	2014	2015	2013	2014	2015
1	Szemere	1630	1635	1635	9	19	16	0,55	1,16	0,98
2	Dorgó	1763	1759	1759	72	48	33	4,08	2,73	1,88
3	Várhegy	1741	1744	1744	3	3	3	0,17	0,17	0,17
4F	Bakonyi	209	209	209	72	86	88	34,45	41,15	42,11
4H	Bakonyi	283	270	266	39	44	44	13,78	16,30	16,54
5S	Szarvas	1266	1266	1266	27	63	43	2,13	4,93	3,40
5L	Szarvas	714	713	713	36	42	44	5,04	5,89	6,17

* Dűlő száma: 4 F: Bakonyi dűlő, Furmint fajtával; 4H: Bakonyi dűlő, Hárslevelű fajtával, 5 S: Szarvas dűlő, lejtős, felső rész, 5 L: Szarvas dűlő, alsó, síkrész

**az adott dűlőn telepített növények száma (hiány nélkül, pótlással számolva)



15. ábra: GTD megjelenés gyakorisága (DI% $\pm$ SE/SD) a különböző vizsgált területeken a Tokaji Borvidéken (2013-2015)

Mann-Whitney U-tesztrel számított szignifikáns eltérés ($p < 0,05$)

1: Szemere dűlő; 2: Dorgó dűlő; 3: Várhegy (Patrícus) dűlő; 4 F: Bakonyi dűlő, Furmint fajtával; 4H: Bakonyi dűlő, Hárslevelű fajtával, 5 S: Szarvas dűlő, lejtős, felső rész, 5 L: Szarvas dűlő, alsó sík fekvésű rész

■: 2013-2015 évek az egyes területeken
 □: Átlag $\pm$ SE
 I: Átlag $\pm$ SD

A legmagasabb DI (13,78-42,11%) a Bakonyi (4F; 4H) dűlőben volt tapasztalható, mindkét vizsgált fajtán (Furmint, Hárslevelű). Ezt követően a második legmagasabb DI érték (2,13-6,17%) a Szarvas (5S; 5L) dűlőn volt megfigyelhető. Mindkét vizsgált területen megegyezett a talajtípus (lössz), az ültetvény telepítési jellemzője, a művelési mód és az alany típusa (Teleki 5C).

A Szarvas dűlőn a terasz-szerű, sík részen (5L) lényegesen magasabb volt a DI (5,04-6,15%), mint a felső, 5–8%-os dőlésszögű részen (5S). Itt 2,13 és 3,40% között alakult a DI érték (5. táblázat, 15. ábra). Ezen eredmény alapján megállapítható, hogy a fertőzöttség mértékét valószínűleg befolyásolta a síkabb területeken a csapadékos időszakokat követő hosszabb nedves állapot. Ezeken a területeken találtuk a legtöbb tünetes növényt.

A Dorgó (2) dűlőn 1,88 és 4,08% között alakult a DI értéke, ami jóval alacsonyabb, mint a hasonló korú, továbbá azonos telepítési jellemzőkkel és alannyal rendelkező Bakonyi (4F, 4H) dűlőn.

A vizsgált fajtákat (Furmint, Hárslevelű) illetően elmondható, hogy a betegség előfordulása legnagyobb arányban a Bakonyi dűlőben volt tapasztalható minden vizsgált évben (5. táblázat, 15. ábra).

A Szemere (1) és a Szarvas (5S, 5L) dűlők hasonló ültetvény jellemzőkkel rendelkeztek (alany, fajta). Ezeken a területeken jóval alacsonyabb volt a betegség előfordulási gyakorisága (0,55-6,17%) mindhárom vizsgálati évben, mint a Bakonyi (4F, 4H) dűlőn. A Bakonyi területek DK tájolásúak, ezáltal nagyobb stressznek vannak kitéve a forró nyarakon szemben a többi vizsgált dűlővel, ahol a sorok egyenletes lefutásúak és egyenletesen éri a növényt a napfény (**2. táblázat**).

A 3. (Várhegy (Patrícus)) területen volt a legalacsonyabb a betegség előfordulása (0,17%). Ezen a területen találtunk a legkevesebb tünetes növényt. Ez a dűlő egyedülálló tulajdonsággal bírt, hiszen itt eltérő fajta (Zéta) és alany (125AA) található (**1. táblázat**). Ez az ültetvény a legfiatalabbak közé tartozott (2013-ban 12 éves), a betegség előfordulása azonban szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a vele azonos korú és művelési módú (középmagas kordon) Szarvas dűlő esetén (**1., 2. táblázat, 15. ábra**).

A Dorgó (2) és a Bakonyi (4F) területek voltak a legidősebb szőlőültetvények (19 és 21 év 2013-ban). Mindkét területen található Furmint, az átlagos betegség előfordulás azonban szignifikáns eltérést mutatott ($P < 0,05$; $P = 0,0495$) (**5. táblázat**).

Összességében elmondható, hogy a betegség előfordulási gyakorisága jelentős különbséget mutatott a különböző vizsgálati években eltérő időjárási viszonyok mellett az egyes területeken. A 2., 4. és 5. (Dorgó, Bakonyi és Szarvas) dűlőkön a betegség előfordulásának változása nem mutatott egyértelmű tendenciát a három év alatt (**5. táblázat**).

4.2 GTD tünetek megjelenésének stabilitása a vizsgált dűlőkön 2013 és 2015 között

A tünetek megjelenését három kategóriába soroltuk: időszakos (tünetmegjelenés csak egy vizsgált évben volt (1)), rendszeres (a három vizsgált év alatt kétszer jelent meg a tünet (2)), folyamatos (mindhárom évben megjelent a tünet ugyanazon tőkén (3)). A **16. ábrán** a fás betegség előfordulásának ismétlődése látható, mely megmutatja, hogy ugyanazon a tőkén hányszor jelent meg a tünet.

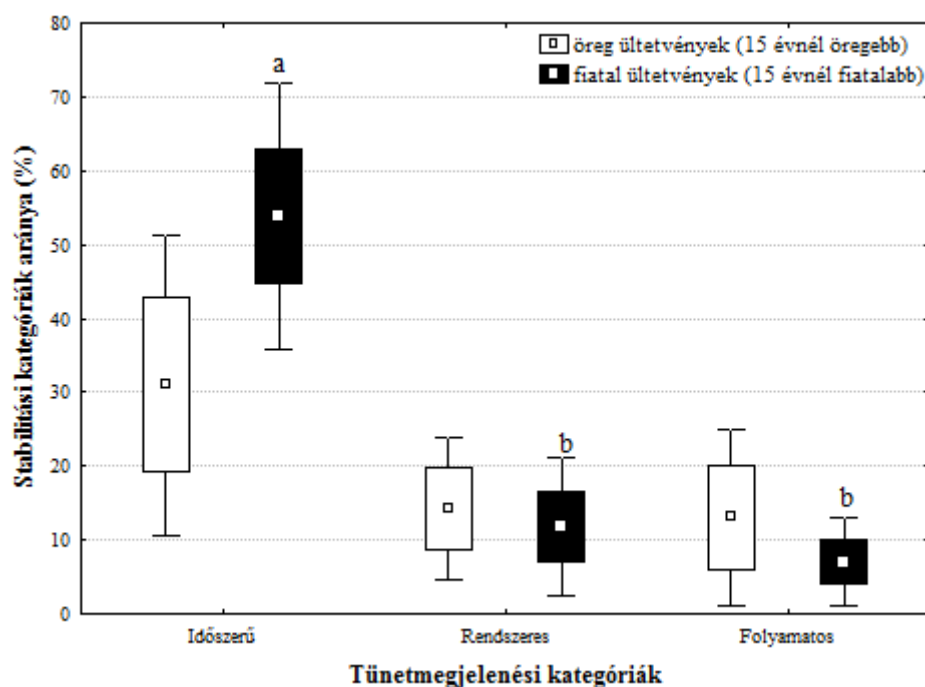
A fiatal és az idős ültetvényekben egyaránt kevesebb volt a tüneteket folytatólagosan mutató tőkék aránya a vizsgált három év alatt (**16. ábra, 6. táblázat**). A fiatal és az idős ültetvények esetén is a tőkék döntő többsége csak egy évben mutatta a GTD tüneteket az egyes vizsgálati területeken, mely statisztikai értékeléssel is igazolható volt (**16. ábra**). A fiatalabb ültetvények esetén szignifikánsan ($P < 0,05$; $P = 0,0244$) igazolható volt azoknak

a tőkéknek az aránya, amelyek csak egy évben mutattak tüneteket. Az idősebb ültetvények esetén azonban szignifikáns eltérés nem volt igazolható a különböző gyakoriságú tünetmegjelenések között ($P > 0,05$; $P = 0,3932$). Megfigyelhető, hogy a rendszeres (két évben tünetes) és a folyamatosan tünetet mutató (mindhárom évben tünetes) növények aránya, kisebb volt, szignifikáns eltérés azonban nem mutatkozott.

A Bakonyi (4H) területen volt a legmagasabb azon tőkék száma, melyek mindhárom évben mutatták a tüneteket, így a folyamatos megjelenési gyakoriság jóval nagyobb arányú (68,00%) volt, mint az egyszeri vagy rendszeres forma (6. táblázat). A Szarvas dűlő ültetvényében az egy évben tünetes tőkék aránya magasabb volt a rendszeres és a folyamatos tünetmegjelenéshez képest. A Szarvas alsó, sík (5L) területen a lejtős (5S) területhez képest azonban magasabb volt azon tőkék aránya, melyek mindhárom évben mutatták a tüneteket, mint a csak két évig tüneteket mutatók. (6. táblázat). A Várhegy (3) területen nem találtunk olyan tőkét, mely minden évben mutatta volna a tüneteket (6. táblázat).

Átlagosan (62,42%) és összes mintaszám alapján számított esetben (62,08%) is az időszerű tünetmegjelenés volt a leggyakoribb a vizsgált ültetvényekben (6. táblázat). A fiatalabb (<15 év) és idősebb ültetvények között nem volt megfigyelhető szignifikáns különbség a tünetgyakoriság különböző megjelenési típusainak előfordulási arányában.

Megállapítható továbbá, hogy az egyes vizsgálati területeken előforduló tünetes növények megjelenése véletlenszerű volt és nem függött a DI-től.



16. ábra: GTD tünetek megjelenése a vizsgált dűlőkön (2013-2015)

6. táblázat: A fás betegség stabilitása a vizsgált ültetvényekben 2013 és 2015 között

Vizsgált dűlők*	Betegség stabilitása (%)			n _d *
	időszerű (1)	rendszeres (2)	folyamatos (3)	
1	55,17	37,93	6,90	29
2	68,27	20,19	11,54	104
3	87,50	12,50	0,00	8
4F	57,58	35,76	6,67	165
4H	20,00	12,00	68,00	50
5S	80,00	5,26	14,74	95
5L	68,35	11,39	20,25	79
Átlag (±SD)	62,08 (21,92)	21,13 (12,77)	16,79 (22,85)	530

n_d*: a három vizsgált év alatt legalább egyszer GTD tünetet mutató növények száma

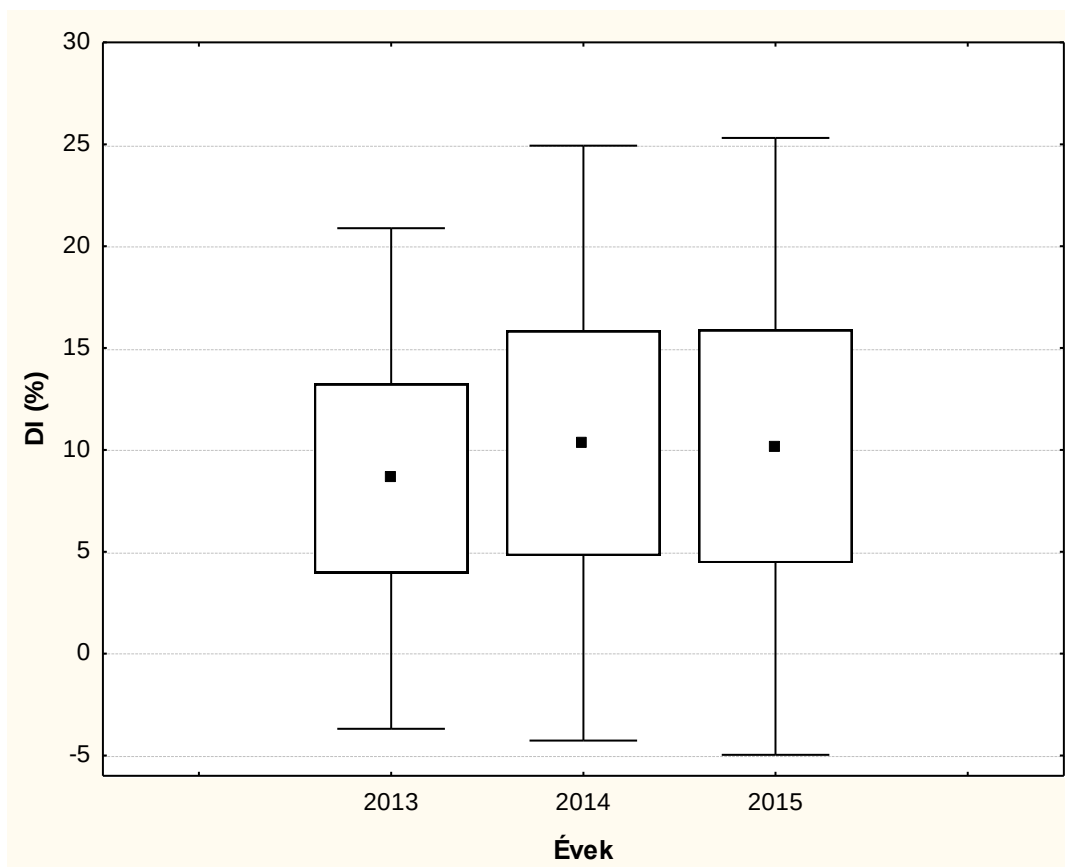
A Várhegy (3) dűlőn csak hét tünetes növényt találtunk, ami csak egy évben mutatta a tüneteket és csak egy növény mutatta a tüneteket két évben is. Mindhárom évben tünetes növényt pedig nem találtunk (**6. táblázat**). Ezért a területet a tünet stabilitását értékelő statisztikai elemzésből kizártuk.

Megállapítottuk, hogy a három tünetmegjelenés stabilitási kategória között szignifikáns különbség volt, mely az ültetvény korának összefüggéséből adódott. Az időszerű betegség megjelenés aránya szignifikánsan (Mann-Whitney U teszt, $p=0,0244$) magasabb volt a fiatalabb ültetvényekben (2013-ban 15 évesnél fiatalabb), mint a rendszeres vagy a folyamatos megjelenés esetén (**16. ábra**).

4.3 A betegség megjelenési gyakoriságának (DI érték) összefüggése a vizsgált évek, eltérő kor, fajta, talaj és topológia esetén

4.3.1 DI érték vizsgálata 2013 és 2015 között az egyes dűlőkön

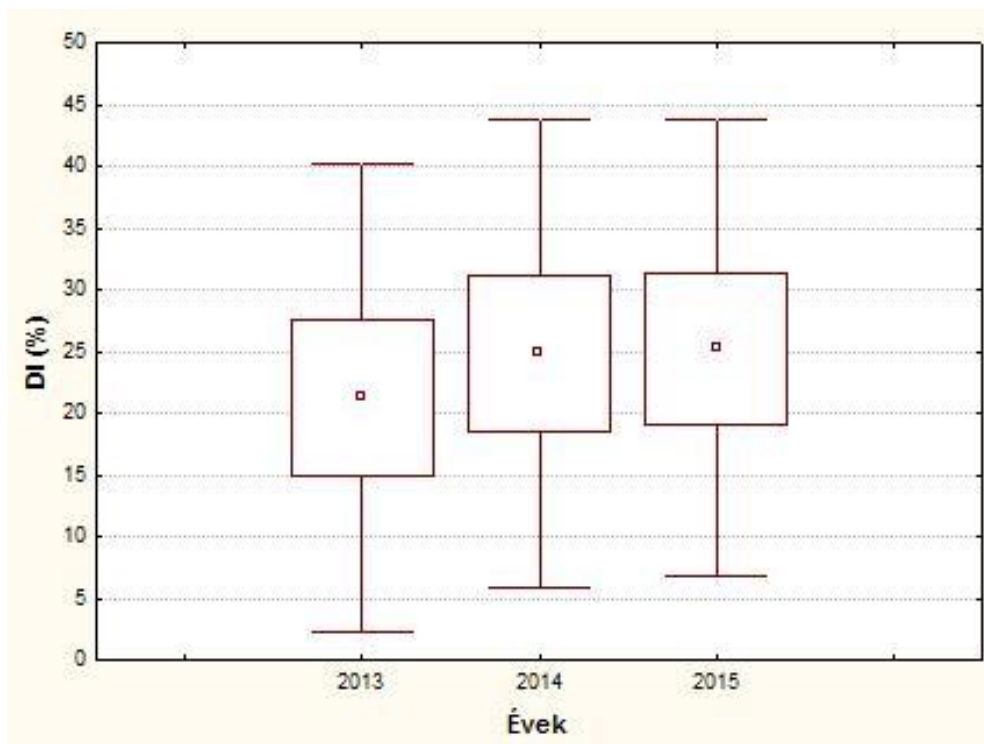
A megfigyelt dűlők esetén szignifikáns különbség ($P>0,05$, $P=0,9528$) nem volt kimutatható az egyes vizsgálati évek (2013, 2014, 2015) és a DI értéke között (**17. ábra**).



17. ábra: DI érték és a vizsgálati évek közötti összefüggés a megfigyelt dülőkön (2013-2015)

■ : 2013-2015 évek átlaga
 □ : Átlag ± SE
 ┤ : Átlag ± SD

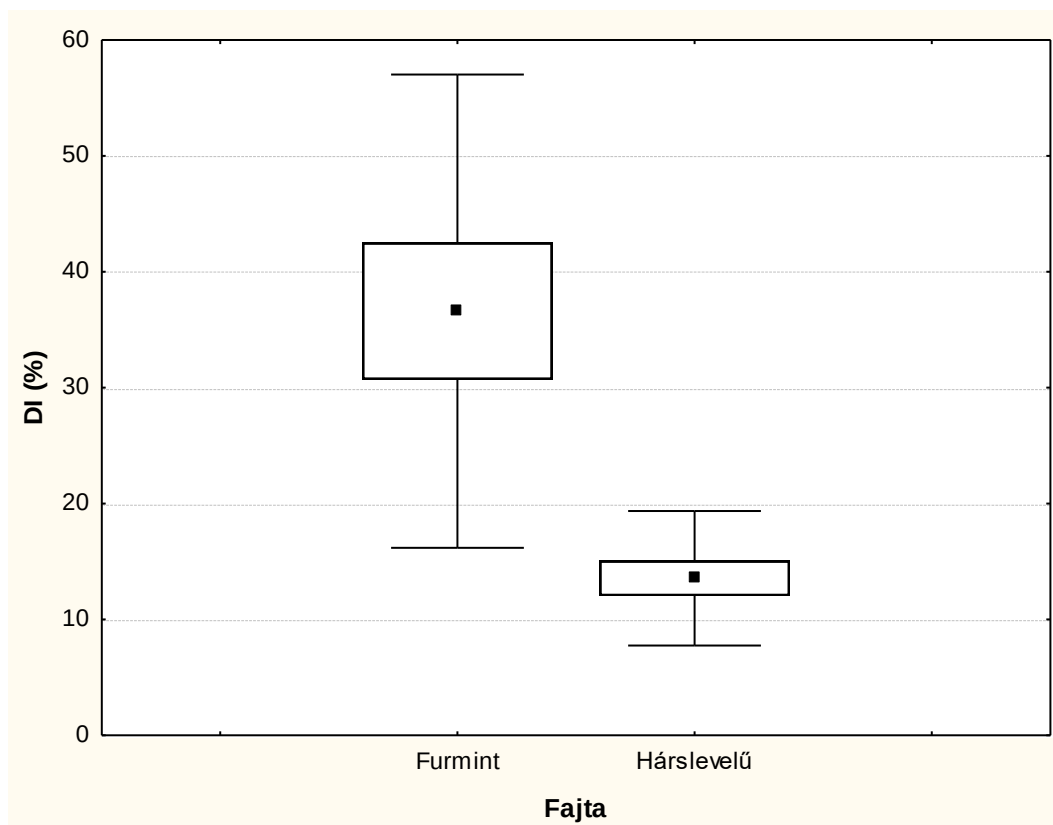
A két Bakonyi terület elhelyezkedésének egyes vizsgálati években lévő összehasonlítása esetén nem volt szignifikáns különbség ($P > 0,05$, $P = 0,8759$) (**18. ábra**).



18. ábra: A betegség megjelenési gyakorisága és a vizsgálati évek közötti összefüggés vizsgálata a Bakonyi dűlőn (2013-2015)

■ : 2013-2015 évek átlaga
 □ : Átlag ±SE
 I : Átlag±SD

A fajták (Furmint, Hárslevelű) tekintetében azonban a három évet összehasonlítva szignifikáns különbség volt tapasztalható ($P < 0,05$, $P = 0,0015$) (**19. ábra**).

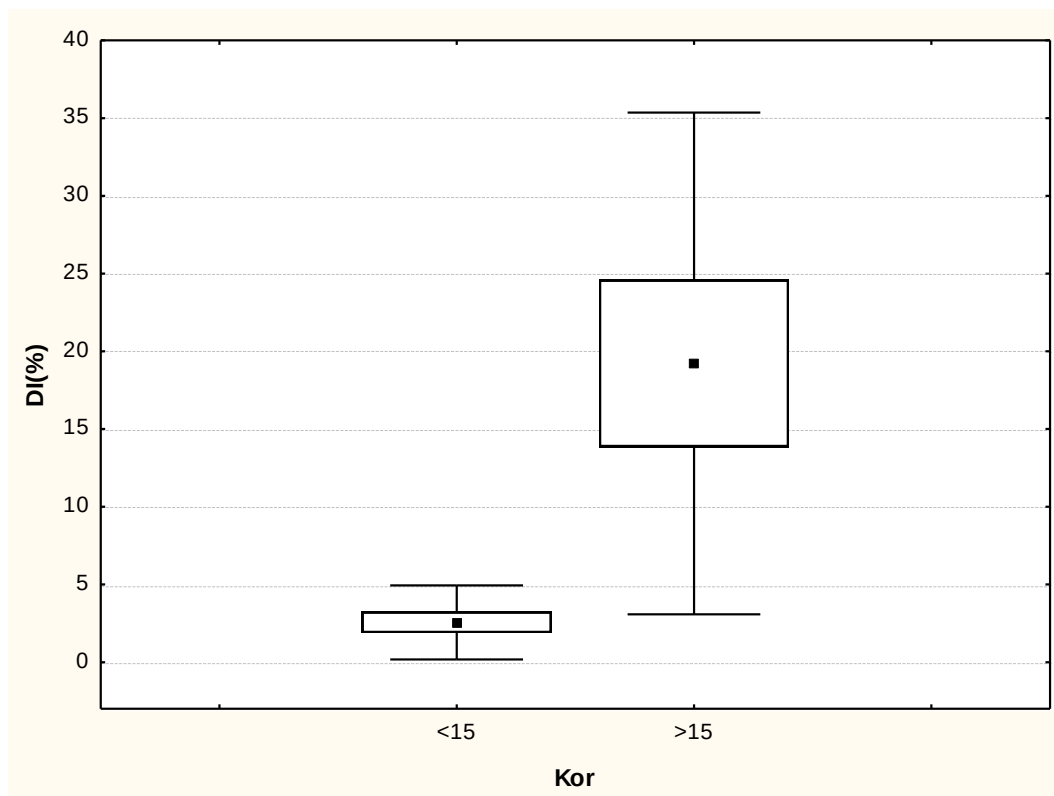


19. ábra: DI értékek alakulása Furmint és Hárslevelű fajták esetén (2013-2015)

■ : Furmint és Hárslevelű fajták átlaga
□ : Átlag ±SE
├─┤ : Átlag±SD

4.3.2 Az ültetvény kora és a DI érték közötti összefüggés vizsgálata

Az ültetvény kora szignifikánsan növelte ($P < 0,05$, $P = 0,004$) a DI értékét az idősebb szőlőültetvényekben (2, 4F, 4H) összehasonlítva fiatalabb telepítésekkel a három vizsgálati évben (1, 3, 5S, 5L) (**20. ábra**).



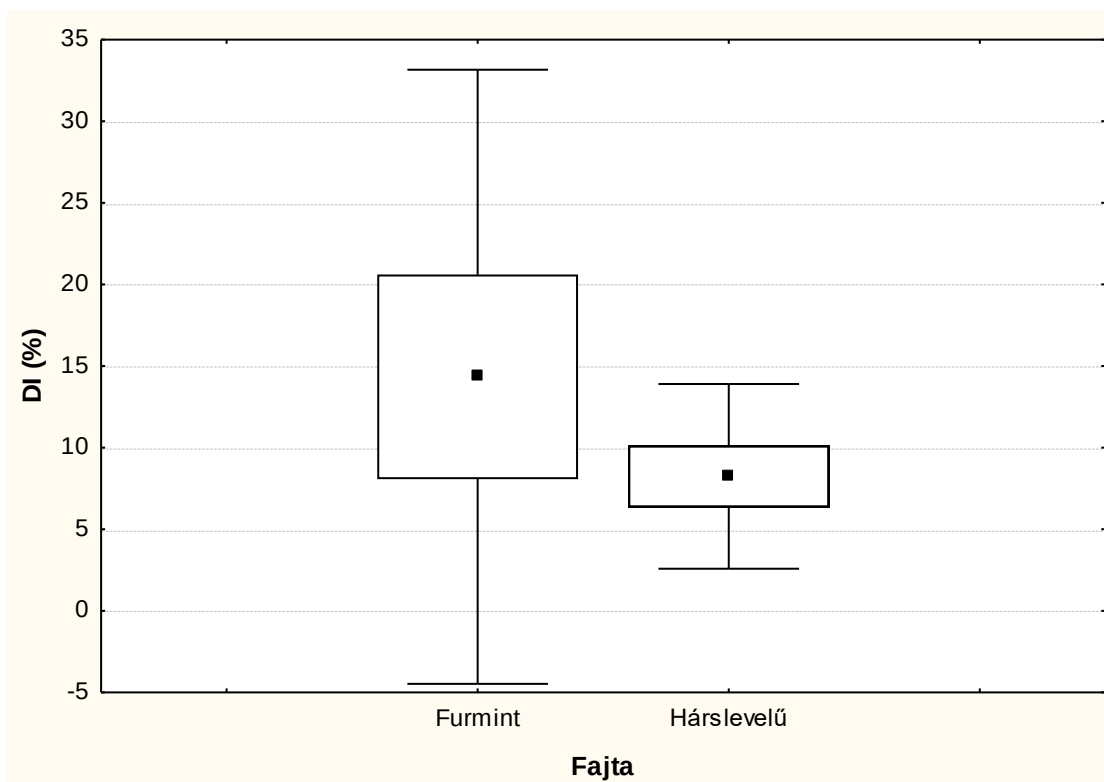
20. ábra: DI értékek alakulása fiatal (<15) és idős (>15) ültetvényeknél (2013-2015)

■ : 2013-2015 évek átlaga fiatal és idős ültetvényeknél
□ : Átlag ±SE
I : Átlag±SD

4.3.3 *Eltérő fajták és a DI értékek összefüggésének alakulása az egyes vizsgált ültetvényekben*

A fajták elemzésénél csak a Furmint és a Hárslevelű fajták összehasonlítása történt meg. A Furmint fajták eltérő talajon voltak. A fajták vizsgálatát tekintve a talaj nem befolyásolta a fertőzöttség mértékét.

Megállapítottuk, hogy a Furmint fajta a DI érték viszonylatában szignifikánsan ($P < 0,05$, $P = 0,000934$) eltért a három év vizsgálati eredményeit összegezve a Hárslevelű fajtától a Bakonyi dűlő esetén (**21. ábra**). Az összes ültetvényre elvégezve az elemzést, a fajták (Furmint, Hárslevelű) vonatkozásában szignifikáns különbség nem volt tapasztalható a betegség megjelenési gyakoriságában.

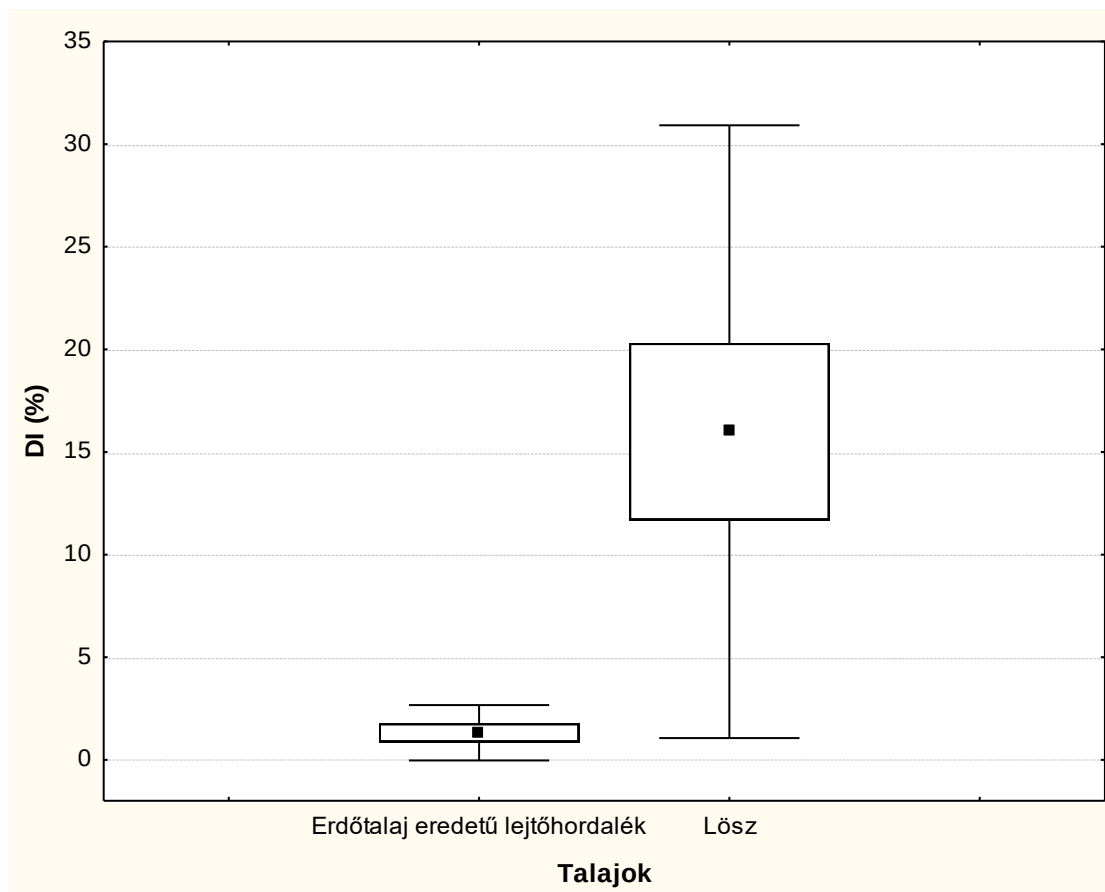


21. ábra: DI értékek alakulása Furmint és Hárslevelű fajták esetén a Bakonyi dűlön (2013-2015)

■ : 2013-2015 évek átlaga az egyes vizsgált fajtáknál
□ : Átlag ±SE
┤ : Átlag±SD

4.3.4 Szőlőültetvények eltérő talaj szerinti összehasonlítása a DI értékkel

A vizsgált szőlőültetvények eltérő talajainak a betegség gyakoriságával történő összehasonlítása során azt állapítottuk meg, hogy lösz talajon szignifikánsan magasabb ($P < 0,05$, $P = 0,000048$) volt a DI érték az erdőtalaj eredetű talajjal szemben (**22. ábra**). A lösz talaj víztartó képessége jó (Rhoton és Markewich, 2006) és a betegség gyakorisága is magasabb volt ezeken a területeken (Bakonyi (4F, 4H) és Szarvas (5S, 5L)).

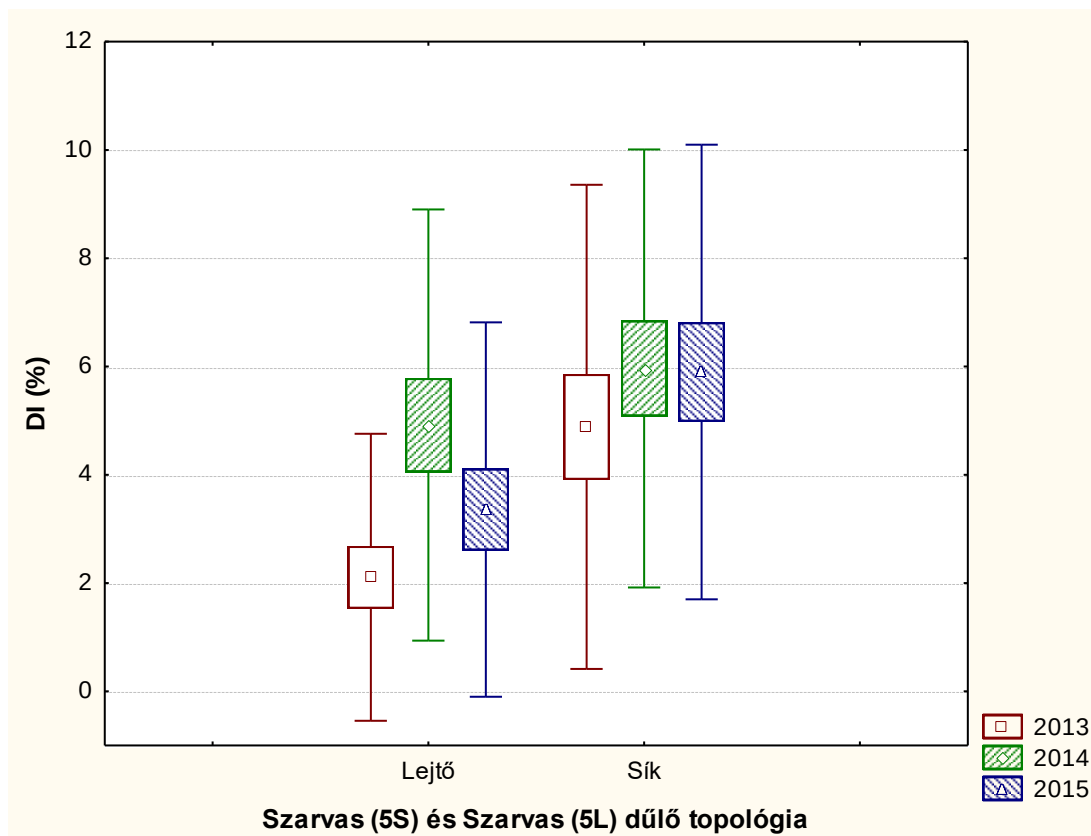


22. ábra: Vizsgált ültetvények eltérő talajainak és DI értékének összehasonlítása (2013-2015)

■ : 2013-2015 évek átlaga eltérő talajtípusnál
□ : Átlag ±SE
┌┐ : Átlag±SD

4.3.5 Vizsgált dűlők elhelyezkedésének és a DI értékének összefüggés vizsgálata

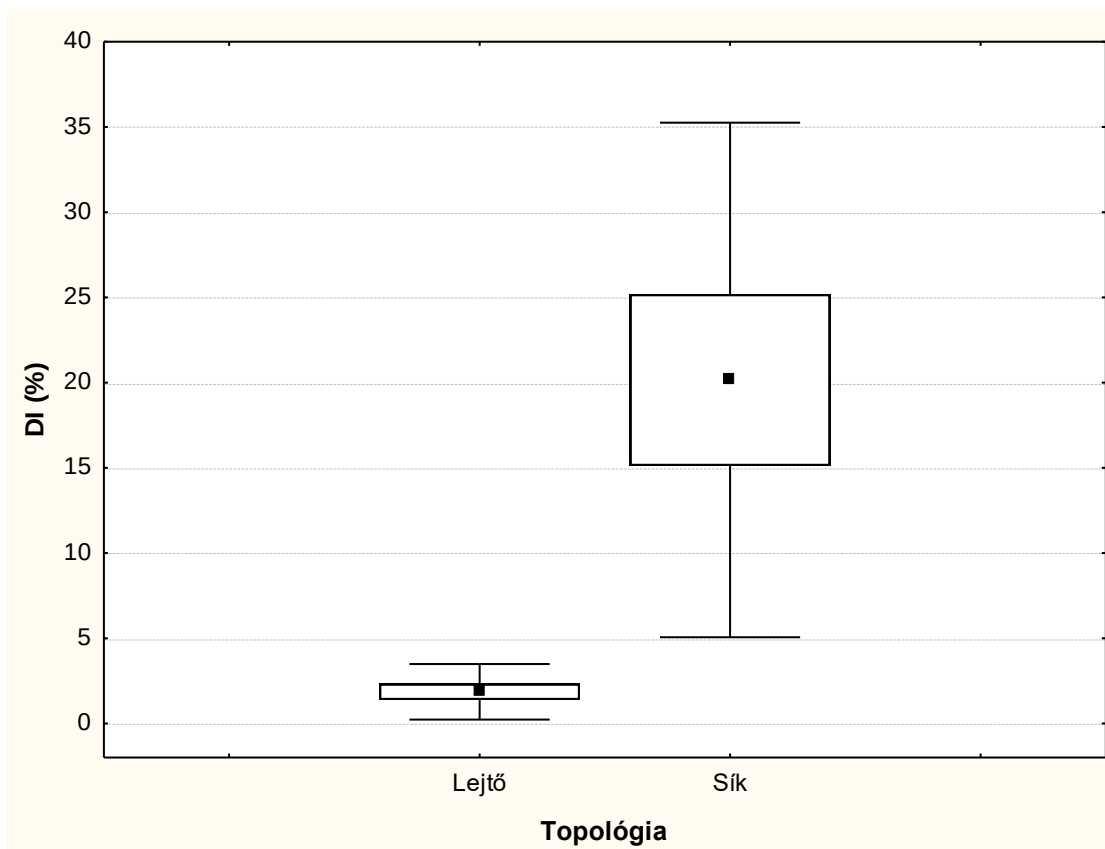
A vizsgált dűlőket eltérő elhelyezkedés jellemezte. A Bakonyi (4F, 4H) területek szintvonalas (lejtőre merőleges), mikroteraszos elrendezésűek, a Szarvas (5L) területeken a sorok lefutása lejtő irányába mutató. A Szarvas dűlő esetén szignifikáns különbség a felső, lejtős (5S) és az alsó, sík (5L) részek között 2013-ban ($P < 0,05$, $P = 0,0326$) és 2015-ben ($P < 0,05$, $P = 0,0389$) mutatkozott. 2014-ben azonban a DI érték nem mutatott szignifikáns eltérést az eltérő lejtésszögű részek között ($P > 0,05$, $P = 0,2203$), csapadékos időszak miatt a lejtős területen is magasabb volt a DI értéke (23. ábra).



22. ábra: DI vizsgálata a Szarvas (5S, 5L) dűlő esetén (2013-2015)

- : Szarvas (5S, 5L) átlaga 2013
- : 2013 Átlag ±SE
- I : 2013 Átlag ±SD
- : Szarvas (5S, 5L) átlaga 2014
- ▨ : 2014 Átlag ±SE
- I : 2014 Átlag ±SD
- △ : 2015 Szarvas (5S, 5L) átlaga 2014
- ▨ : 2015 Átlag ±SE
- I : 2015 Átlag ±SD

A Szemere (1), a Dorgó (2), a Várhegy (Patrícus) (3) és a Szarvas (5L) dűlők lejtő irányába vezetett sorkelrendezésű szőlőültetvények. Ezeken a lejtős területeken a csapadék gyorsabban folyik le és a DI érték is szignifikánsan alacsonyabb ($P < 0,05$, $P = 0,000007$) volt a sík területekhez képest (4F, 4H, 5S) (**24. ábra**) (Kovács et al., 2016).



24. ábra: DI érték alakulása lejtős és sík területek esetén (2013-2015)

■ : 2013-2015 évek átlaga lejtős és sík területek esetén
 □ : Átlag ±SE
 I : Átlag±SD

4.4 A betegség gyakoriságának (DI érték) összefüggése az időjárási viszonyokkal

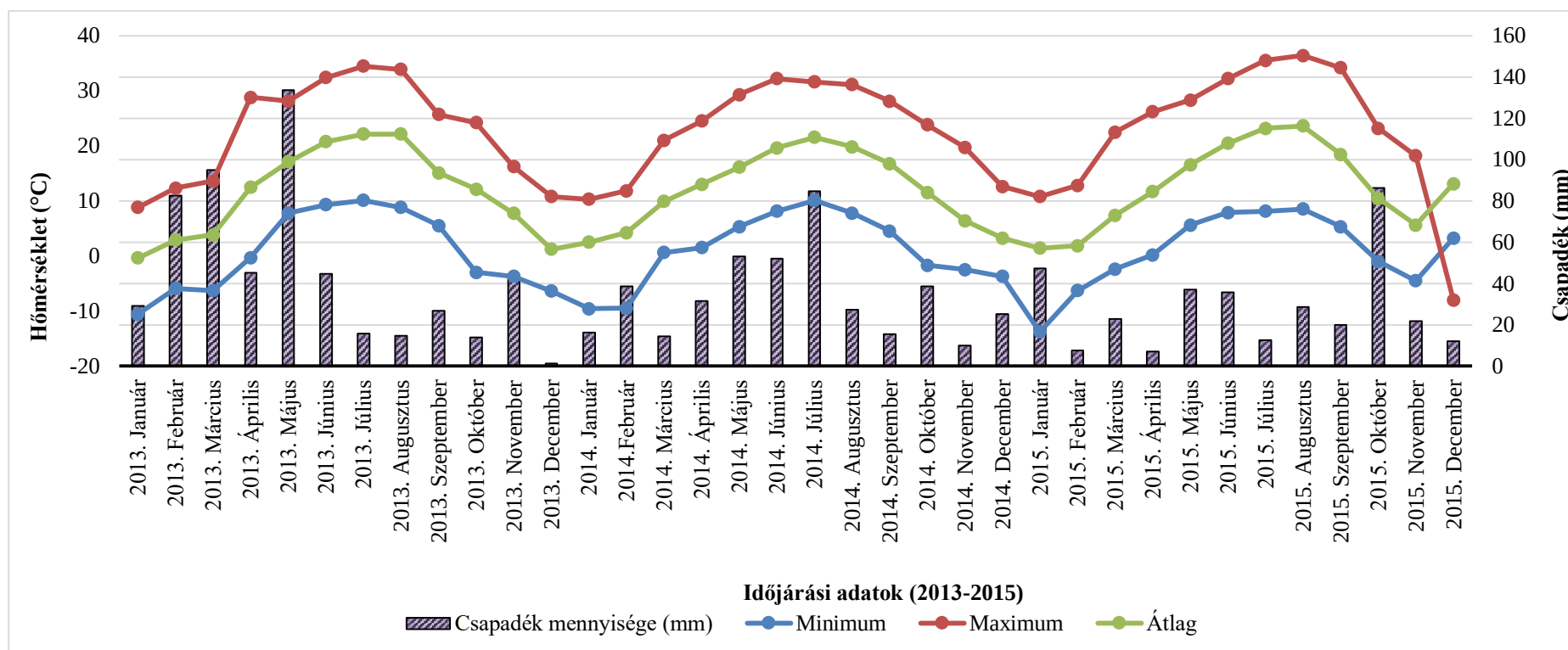
Az időjárási adatok a Dereszla meteorológiai állomásáról származtak. A mérőállomás a vizsgált területek közelében található. A 2013 és 2015 között alakuló időjárást a **25. ábra** szemlélteti.

A vegetációs időszakban a lehullott csapadék mennyisége kevesebb, a hőmérséklet magasabb volt 2013-ban és 2015-ben, mint 2014-ben. A tünetes növények száma a Bakonyi (4H) és a Várhegy (3) dűlők kivételével minden vizsgált területen magasabbak voltak 2014-ben, mint a másik két évben (**5. táblázat**). A Bakonyi (4H) területen 2014-ben és 2015-ben is megegyezett a tünetes tőkék száma (44 db), a Várhegy (3) dűlőn minden évben három-három darab tünetes növényt találtunk (**5. táblázat**).

A DI értéke a csapadékos, 2014-es évben a Szemere (1) (1,16%), Dorgó (2) (2,73%), Várhegy (3) (0,17%) dűlők és a Szarvas lejtős (5S) része (4,93%) esetén alacsonyabb volt a többi vizsgált dűlőhöz viszonyítva.

A Bakonyi (4F, 4H) és a Szarvas alsó (5L) területeknél a DI érték folyamatos növekedése volt megfigyelhető, mely a sík területi elhelyezkedéssel magyarázható. A Várhegy (3) területen az egyes években nem változott a betegség gyakorisága (0,17%), a Dorgó (2) esetén pedig folyamatos csökkenés volt tapasztalható (**5. táblázat**).

A vizsgált fajták (Furmint, Hárslevelű, Zéta) rügyfakadása áprilisban volt mindhárom vizsgált évben. A virágzás május végétől június elejéig tartott. A csapadék mennyisége 2013 és 2015 között hasonlóan alakult a rügyfakadás és a virágzás idején. 2015-ben a vegetációs időszakban (április-szeptember) a csapadék mennyisége csekély volt a korábbi évekhez képest. A vizsgált évek esetén 2013 nyara volt a legszárazabb, mely kedvezett az esca tünetek megjelenésének.



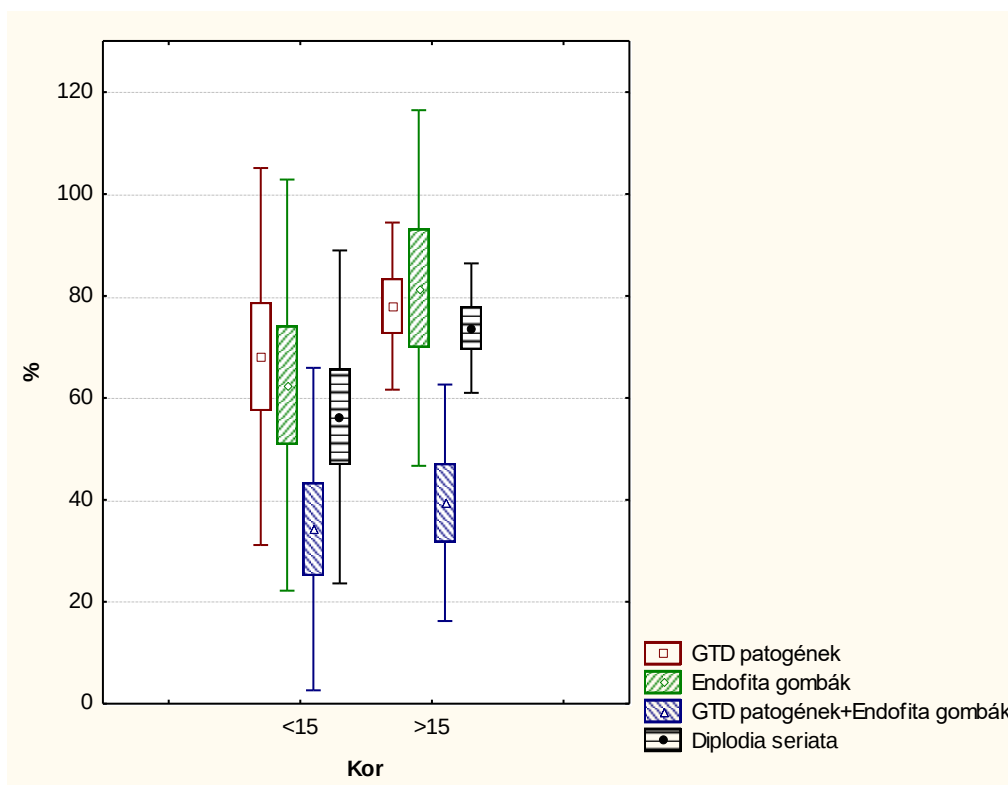
25. ábra: Időjárási adatok (2013-2015)
(Dereszla meteorológiai Állomás)

4.5 GTD patogének és endofita gombák előfordulásának gyakorisága eltérő korú ültetvényeken 2013 és 2015 között

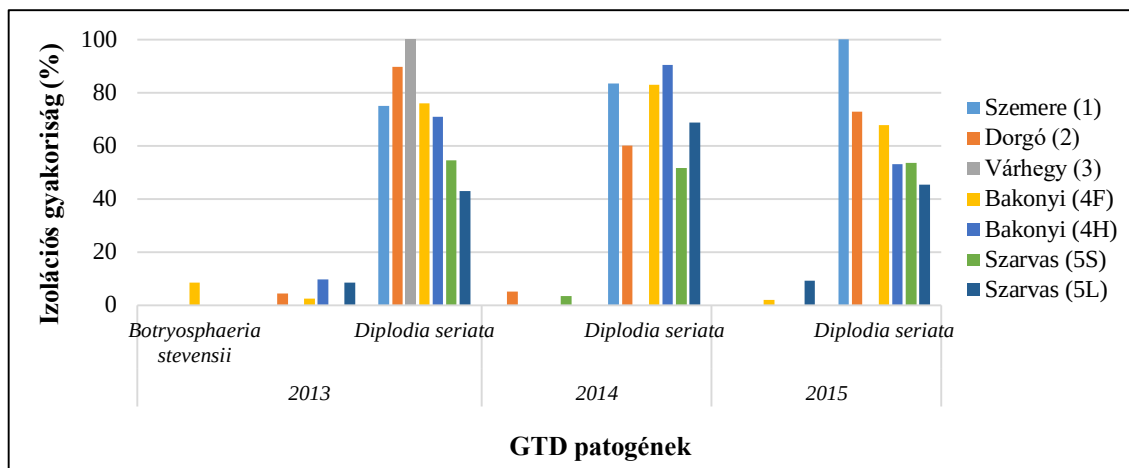
A tőkebetegség kórokozóinak és az endofita fajoknak az előfordulása eltérően alakult a vizsgált dűlőkön az egyes évek során. Az egyes területről származó tünetes tőkék vizsgálata során a minták feléből sikerült GTD patogént izolálni.

A Tokaji Borvidéken GTD patogénként leggyakrabban a *D. seriata* és *Diaporthe* fajokat sikerült azonosítani. 2013-ban azonban a hét, részleges elhalást mutató tőkéből *D. mutila* fajt azonosítottunk. GTD patogének közül a *D. seriata* fajt nagyobb arányban sikerült izolálni a *Diaporthe* fajokhoz képest.

Az egyes években az egyes dűlőkön izolált GTD patogén ($P>0,05$, $P=0,2797$) GTD+endofita ($P>0,05$, $P=0,6227$) és az endofita fajok ($P>0,05$, $P=0,1582$) arányában szignifikáns különbség nem mutatkozott (26. ábra). A kórokozók közül a *D. seriata* faj jelenlétében a vizsgált években szintén nem mutatkozott szignifikáns különbség ($P<0,05$, $P=0,4673$). (26. ábra). A Bakonyi (4F) dűlő esetén minden évben sikerült GTD patogént izolálni a tünetes növényekből. A többi vizsgált területen nem minden évben volt kimutatható GTD kórokozó (27. ábra).



26. ábra: GTD patogének és az endofiták előfordulásának alakulása a vizsgált dűlőkön 2013 és 2015 között



27. ábra: GTD kórokozók előfordulása a vizsgált dűlőkön (2013-2015)

Az ültetvény kora statisztikai számításokkal igazolva szignifikánsan nem befolyásolta a GTD patogén gombák arányát ($P > 0,05$, $P = 0,8309$). Szintén nem volt különbség a GTD kórokozóknak az endofitákkal való együttes előfordulási arányában ($P > 0,05$, $P = 0,8029$), valamint az endofiták ($P > 0,05$, $P = 0,5220$) és a *D. seriata* ($P > 0,05$, $P = 0,1766$) előfordulási arányában sem a vizsgált ültetvényekben a három éves vizsgálat során (**26. ábra**).

7. táblázat: Az egyes gombák (GTD patogén és endofita fajok) izolációs gyakoriságának alakulása (2013-2015)

Dűlő	Izolációs gyakoriság (%)		
Évjárat	2013	2014	2015
Szemere (1)	0,25	0,73	0,98
Dorgó (2)	3,86	1,14	0,63
Várhegy (3)	0,11	0,11	0,00
Bakonyi (4F)	39,71	72,73	97,61
Bakonyi (4H)	10,95	7,78	12,78
Szarvas (5S)	2,61	2,29	2,21
Szarvas (5L)	4,90	4,49	1,54

A **27. ábrán** és a **7. táblázatban** látható, hogy a területek közül a Bakonyi területek (4F, 4H) mutatták a legmagasabb izolációs gyakoriságot, azonban azt is el kell mondani, hogy innen érkezett be a legtöbb minta 2013 és 2015 között.

2013-ban minden területről sikerült egy vagy két eltérő GTD kórokozót izolálni, azonban a 2014 és a 2015 évben már nem (**27. ábra**, **5. melléklet**). 2014-ben a Várhegy

(3) dűlön a Zéta fajtán GTD patogén nem volt kimutatható (27. ábra, 5. melléklet). 2015-ben a Furmint fajtából tudtunk a legnagyobb arányban kimutatni GTD patogént, de az eltérő talajtípus nem befolyásolta az arányukat.

Összességében megállapítható, hogy minden vizsgált évben majdnem minden területen a *D. seriata* fajt azonosítottuk a legnagyobb arányban a GTD patogének közül.

4.5.1 *Diplodia seriata* és *Diaporthe* sp. izolációs gyakorisága és párhuzamos előfordulásuk a tünetes növényeken a vizsgált ültetvényekben (2013-2015)

A legtöbb tünetes növényből tudtunk *D. seriata* fajt izolálni valamennyi vizsgált ültetvényben. Az említett kórokozó izolálási gyakorisága 94 és 100% között változott (8. táblázat). A *Diaporthe* sp. izolálási aránya jóval alacsonyabb volt, míg *D. mutila* fajt csak egy évben (2013) és egy ültetvényben (4F) sikerült izolálni.

8. táblázat: *D. seriata* és *Diaporthe* sp. izolációs gyakorisága (%) és a két kórokozó párhuzamos előfordulása (D*D) az egyes ültetvények tünetes növényeiben 2013 és 2015

Dűlő*	Izolációs gyakoriság (%)		
	<i>Diplodia. seriata</i>	<i>Diaporthe</i> sp.	D*D
1	100,00	0,00	0,00
2	98,78	4,88	3,66
4F	96,10	2,44	1,95
4H	94,92	5,08	0,00
5S	94,23	5,77	0,00
5L	97,56	4,88	2,44
mean (±SD)	96,93 (2,25)	3,84 (2,20)	1,34 (1,57)

*1: Szemere, 2: Dorgó, 3: Várhegy, 4F: Bakonyi Furmint, 4H, Bakonyi Hárslevelű, 5S: Szarvas lejtős, 5L: Szarvas sík

4.5.2. Endofita fajok izolációs gyakorisága a vizsgált ültetvényekben (2013-2015)

A GTD kórokozók mellett különböző endofita fajok is megtalálhatóak voltak a tökékből (*Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Aureobasidium* sp., *Bionectria* sp., *Epicoccum* sp., *Fusarium* sp., *Mucor* sp., *Phoma* sp., *Peniophora* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp.) (4. melléklet). Rábai et al. (2008) szintén hasonló endofitákat azonosítottak a GTD

patogének mellett a metszési sebből vett mintavételezés folyamán. Bruez et al. (2014) metagenomikai elemzéssel bizonyította ugyanezt a tényt.

Az **4. melléklet**ben az egyes években izolált összes endofita jelenlétének alakulása látható. Az *Alternaria* fajok más gombákkal való társulása felerősítheti a tünetek megjelenését, jelenlétüket a fás szövetben, (Larignon-Dubos, 1997; Moreno-Sanz et al., 2013). Az *Alternaria* fajok nagy gyakorisággal fordultak elő a GTD tüneteket mutató növényekben. Moreno-Sanz et al. (2013.) szerint ezek a fajok az elhalt vagy elhaló farészeken fordulnak elő, nem kórokozók, hanem szaprofitaként jennek meg a fás szöveten.

16-65%-ban csak olyan gombákat izoláltunk 2013 és 2015 között az egyes területekről, melyeket GTD patogénként nem írtak még le. A Várhegy (3) ültetvényben azonban kevés volt a mintaszám 2013 és 2015 években, így gyakoriságuk 0% volt, míg 2014-ben 100% volt az előfordulási arány.

2013-ban volt a legváltozatosabb az egyes dűlőkből izolált endofiták aránya. Az *Alternaria* fajok előfordulása volt a legmagasabb a Bakonyi (4F, 4H) és a Szarvas (5S, 5L) területek esetén (2-40%). *Fusarium* fajokat a Szemere (1) dűlő kivételével minden dűlőről sikerült azonosítani. A Várhegy (3) terület, ahol a legalacsonyabb volt a mintaszám, az endofiták magas arányát tapasztaltuk.

Az **4. melléklet**ben látható, hogy 2014-ben a Bakonyi és a Szarvas dűlőkben is csökkent a leggyakrabban izolált endofita, az *Alternaria* sp. kimutatási gyakorisága (4-20%). A Szemere (1) és a Várhegy (3) dűlők esetén pedig nem találtunk *Alternaria* fajokat.

A beérkezett, tünetet mutató minták száma (n) csökkent minden vizsgált területen a korábbi évhez hasonlítva (**4. melléklet**).

Az *Alternaria* fajok mellett legnagyobb gyakorisággal a *Fusarium* fajok fordultak elő 2013 és 2015 között a Bakonyi (4F, 4H), Dorgó (2), Szarvas (5S) területeken (1-50%). A Szemere (1) dűlőről egyáltalán nem izoláltuk egyik évben sem. A Várhegy (3) terület esetén csak 2013-ban volt kimutatható, míg a Szarvas (5L) területen 2013 és 2014-ben is előfordult, csupán 2015-ben nem sikerült izolálni (**4. melléklet**).

2014-ben az izolált *Mucor* fajok előfordulása gyakoribb volt (9-30%) 2013-hoz képest (5-20%). A Szemere (1) dűlő esetén egyik évben sem sikerült izolálni, a Várhegy (3) esetén pedig 2013 és 2014 években volt izolálható, azonban 2015-ben már nem (**4. melléklet**). A *Trichoderma* fajok megjelenését tekintve hasonló előfordulás volt jellemző 2013 és 2015 között (**4. melléklet**).

2015-ben a leggyakrabban izolált endofita fajok (*Alternaria* sp., *Fusarium* sp.) aránya csökkent a korábbi évekhez viszonyítva. A Bakonyi dűlőben *Aureobasidium* fajokat is izoláltunk (2%), melyek jelenlétét korábban nem tapasztaltuk (**4. melléklet**).

4.6 A *Diplodia seriata* és a *Diaporthe* sp. fertőzési arányának (IR%) alakulása 2015-ben a vizsgált ültetvényekben

Az egyes vizsgált területeken a GTD kórokozók fertőzési arányát binomiális próba segítségével elemeztük.

A *D. seriata* átlagos fertőzési aránya 75,51% ($\pm 19,74$) (406 növény) volt az összes ültetvényben. A kórokozó fertőzési arányának középértékei szignifikánsan eltértek az egyes területeken (Binomiális próba $p < 0,05$).

A *Diaporthe* sp. átlagos fertőzési aránya ezzel szemben 3,71% ($\pm 2,77$) (19 növény) volt. Ezen GTD patogén esetén a vizsgált területek középértékei között Binomiális próba ($p > 0,05$) segítségével szignifikáns különbség nem volt igazolható (**9. táblázat**).

A kórokozók fertőzési aránya (IR%) és a betegség megjelenési gyakorisága (DI%) között korreláció nem volt detektálható ($r=0,4818$).

9. táblázat: A *D. seriata* és a *Diaporthe* sp. kórokozók jelenléte az egyes vizsgált dűlőkön 2015-ben

Dűlő*	Megfigyelt növények száma	Tünetes növények száma			Fertőzési arány (IR%)	
		n	<i>Diplodia seriata</i> -val fertőzött	<i>Diplodia</i> sp.-val fertőzött	<i>Diplodia seriata</i>	<i>Diaporthe</i> sp.
		n _{össz} =558				
1	1635	63	37	1	58,73**	1,59
2	1759	54	54	4	100,00**	7,41
3	1744	73	53	4	72,60**	5,48
4F	209	208	128	4	61,54**	1,92
4H	266	34	17	0	50,00**	0,00
5S	1266	64	60	2	93,75**	3,13
5L	713	62	57	4	91,94**	6,45
Átlag ($\pm$ SD)					75,51(19,74)	3,71 (2,77)

n_{össz}: összes vizsgált növény

** : szignifikáns eltérés a középérték alapján binomiális próbával ($p < 0,05$)

1: Szemere, 2: Dorgó, 3: Várhegy, 4F: Bakonyi Furmint, 4H, Bakonyi Hárslevelű, 5S: Szarvas lejtős, 5L: Szarvas sík

4.7 A *Diplodia mutila* megjelenése és az általa okozott tünet a Bakonyi (4F) dűlőben 2013-ban

A vizsgált ültetvényben GTD kórokozók közül *D. seriata* és *Diaporthe* fajok mellett *D. mutila* fajt is azonosítottunk 2013-ban. A kórokozó azonosítása részleges elhalást mutató tőkéről történt (**28. ábra**). A betegség jellegzetes tünete továbbá, hogy a metszési seb elszíneződést mutat. Az általa okozott részleges elhalást korábban már Lehoczky (1974) is leírta. Az említett kórokozót későbbiekben azonban már erről a területről nem sikerült izolálni.

2015-ban történő újabb felmérést és ismételt mintavételt végeztünk a Bakonyi (4F) területen. Az egyik korábban (2013) vizsgált, *D. mutila* kórokozót tartalmazó R1N10 tőkéből nem izoláltuk újra ezt a GTD patogént, de látens módon jelen lehetett, ahogy ezt a tényt korábban Lehoczky (1974) is leírta, hiszen ez a tőke 2016-ban elpusztult. A 2013-as mintavételt követően izolált néhány *D. mutila* a **10. táblázat**ban található.



28. ábra: Furmint fajta (R1N10 tőke) termőkarának részleges elhalása a Tokaji Borvidéken
(Kovács, 2013)

4.8 Morfológiai vizsgálatok

4.8.1 GTD patogének morfológiája

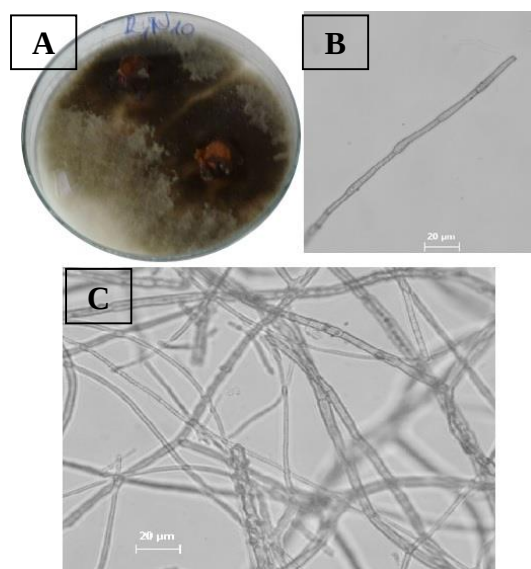
4.8.1.1 *Diplodia mutila* morfológiája

A *D. mutila* zöld hajtáson, szőlőn és fürtön tünetet nem okoz, nyári időszakban a fás részeket támadja meg. Fertőzőképességét a csapadék mennyisége befolyásolja. 2013-ban a tavaszi időszak nagyon csapadékos volt, mely elősegíthette a kórokozó fertőzőképességének erősödését.

A kórokozó néhány évig nem okoz tünetet csak látens módon van jelen, majd később a jó kondícióban lévő növény részleges vagy teljes elpusztulást mutathat (28. ábra). A fás szövetbe a metszési sebeken keresztül jut be (Lehoczky, 1974).

Vizsgálataink során morfológiai és genetikai vizsgálatot is végeztünk. A morfológiai vizsgálat során a telepjellemzőket vizsgáltuk (29/A. ábra), a faj konídiumtermelését nem sikerült indukálni. A *D. mutila* szeptált hifákkal rendelkezik (29/B., 29/C ábra), melyek kezdetben átlátszóak, majd olajbarnás színűek (Lehoczky, 1974) (29/B. ábra). Peritéciumot Lehoczky (1974) kutatásaihoz hasonlóan a szőlőnövényen mi sem találtunk.

ITS szekvencia alapján azonban elvégeztük a fajazonosítást. A talált fajokat a GenBank adatbázisába feltöltöttük (10. táblázat).



29. ábra: *D. mutila* burgonya-dextróz táptalajon

(tenyészet burgonya-dextróz agar táptalajon (A); szeptált hifa (B, C, obj.: 40x)

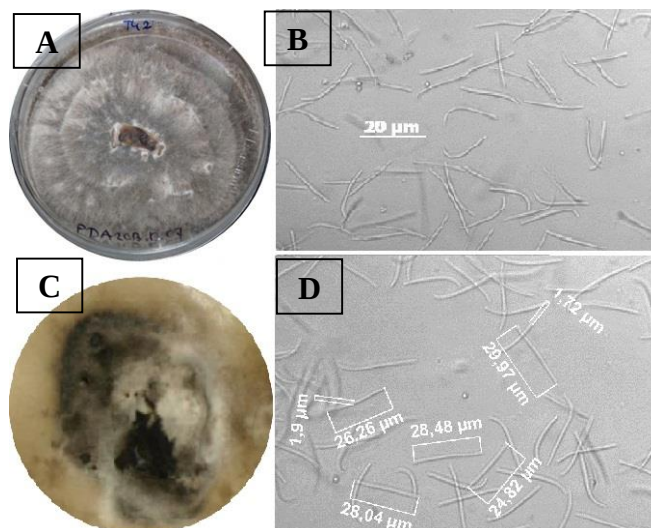
(Kovács, Sándor, 2016)

10. táblázat: Bakonyi dűlőről izolált *Diplodia mutila* GTD patogén (2013)

Vizsgált tőke	Izolátum száma	Izolált faj	Gazdanövény	Dűlő megnevezése	Nyilvántartási szám (GenBank accession number) (*ITS)
R1N51	HUT46	<i>Diplodia mutila</i>	<i>Vitis vinifera</i>	Bakonyi	KU377212
R3N29	HUT69	<i>Diplodia mutila</i>	<i>Vitis vinifera</i>	Bakonyi	KU377231
R1N27	HUT70	<i>Diplodia mutila</i>	<i>Vitis vinifera</i>	Bakonyi	KU377232
R1N28	HUT80	<i>Diplodia mutila</i>	<i>Vitis vinifera</i>	Bakonyi	KU377242
R1N10	HUT83	<i>Diplodia mutila</i>	<i>Vitis vinifera</i>	Bakonyi	KU377245
R2N13	HUT88	<i>Diplodia mutila</i>	<i>Vitis vinifera</i>	Bakonyi	KU377250
R1N21	HUT102	<i>Diplodia mutila</i>	<i>Vitis vinifera</i>	Bakonyi	KU377263

4.8.1.2 *Diaporthe eres* morfológiája

A *Diaporthe* fajok növekedési gyűrűvel rendelkeznek. Telepeik bézs, barnás színűek (30/A. ábra). Konídiumaik krémfehér cseppekben termelődnek. α és β konídiumaik a peritéciumokban (30/C. ábra) képződnek (Cinelli et al., 2016). Az előbbi gömb alakú és kisebb méretű, az utóbbi, hosszúkas nagyobb méretű. Saját izolátumaink esetén a β -konídium mérete átlagosan $1,72-1,9 \times 25-28 \mu\text{m}$ között alakult (30/B., 30/D. ábra).

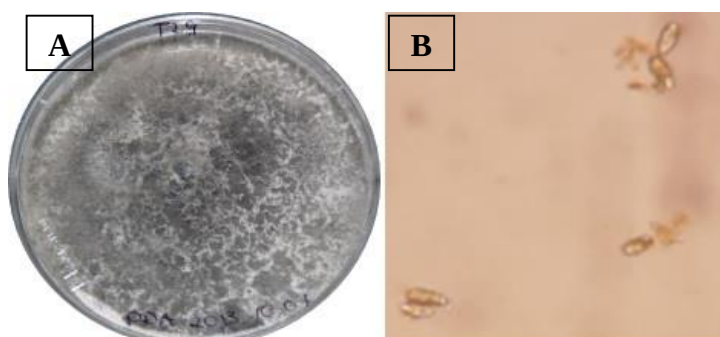


30. ábra: *Diaporthe eres* morfológiája

(tenyészet burgonya-dextróz agar táptalajon (A); β -konídiumai (B, D, obj.: 40x), peritécium (C, obj.:6,3x))
(Kovács, 2014)

4.8.1.3 *Diplodia seriata* morfológiája

A telepmorfológia vizsgálata alapján a tünetes tőkeminták nagy részéből (kb. 80%) kimutatható volt a szőlő tőkeelhalásában szerepet játszó *Botryosphaeriaceae* családba tartozó *D. seriata* (teleomorf: *B. obtusa*) faj. Gyorsan növekvő, légmicéliumot képező, sötét pigmentet termelő faj (**31/A. ábra**). A konídiumai oválisak, lehetnek átlátszóak vagy sötétbarna színűek, néhányuk szeptált vagy harántfal nélküli (Phillips et al., 2013). A konídiumok megfigyeléséhez tülevelet tartalmazó táplevesre van szükség. Az **31/B. ábrán** látható konídiumokat az INRA Kutatóintézetben, Franciaországban (Bordeaux) vizsgáltuk 2015-ben.



31. ábra: *Diplodia seriata* morfológiája

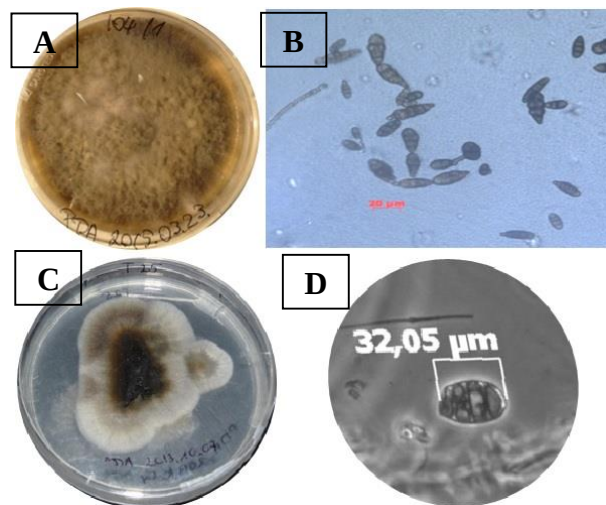
(tenyészet burgonya-dextróz agar táptalajon (A); konídiumai (B, obj.: 40x))
(Kovács, 2013, 2015)

4.8.2 Leggyakrabban izolált endofita fajok morfológiája

Vizsgálataink során aszkuszos: *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Aureobasidium* sp., *Bionectria* sp., *Epicoccum* sp., *Fusarium* sp., *Mucor* sp., *Penicillium* sp., *Phoma* sp., *Trichoderma* sp fajok, bazídiumos gombák közül pedig a Bakonyi (4F) területről egy tünetes növény kordonkarából *Peniophora* fajt sikerült izolálni.

4.8.2.1 *Alternaria* sp. morfológiája

Az *Alternaria* fajok szőlőnél gyümölcsrothadást okozhatnak, hiszen képesek a gyümölcs mikrorepedésein át behatolni a bogyóba (Swart et al., 1995). Méréseink alapján a konídiumok mérete 20 és 32 μm volt. Előfordulhatnak a szőlő leveleiben is (Swart et al., 1995). Telepeik változatos színűek. Szürkészöld színtől a barnás színig nagyon sokféle színűek lehetnek (32/A., 32/C. ábra). Gyors növekedés jellemzi őket. A konídiumok barnás színűek, elágazó láncokban kapcsolódnak egymáshoz, hossz- és kereszt irányban is harántfalakkal tagoltak (32/B., 32/D. ábra) (Rotem, 1994).



32. ábra: *Alternaria* sp. morfológiája

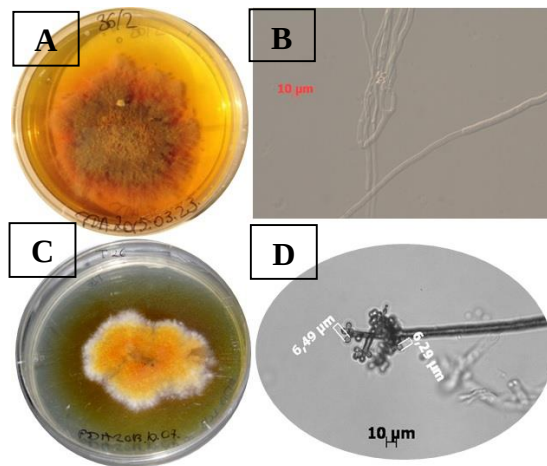
(tenyészet burgonya-dextróz agar táptalajon (A, C); konídiumai (B, D, obj.: 40x))

(Kovács, 2013, 2015)

4.8.2.2 *Epicoccum* sp. morfológiája

Endofitaként növények belső szöveteiben is megtalálhatóak (Schulz és Boyle, 2005; Arnold, 2007). Mims és Richardson (2005) szerint az *Epicoccum nigrum* elsősorban korhadó növényi szövetekben fordul elő. A morfológiai vizsgálat során erőteljes

micélium növekedést figyeltünk meg. Telepei pelyhesek, narancssárga színű pigmentet termelnek (33/A., 33/C. ábra). A konídiumok „gomb”szerűek (5-25 μm), enyhén pigmentált konidiofórokkal. Konídiumtartói rövidek (33/B., 33/D. ábra).



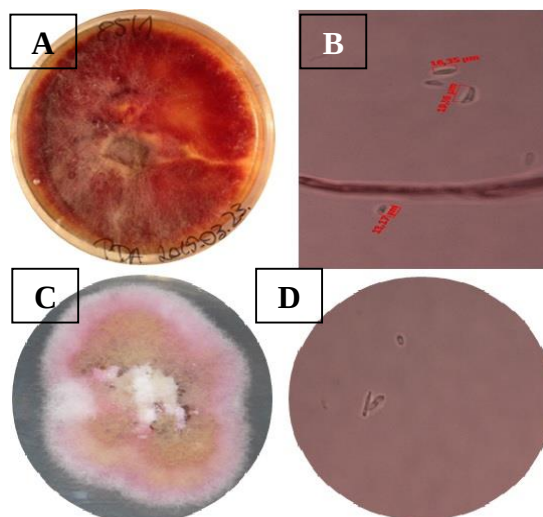
33. ábra: *Epicoccum* sp. morfológiája

(tenyészet burgonya-dextróz agar táptalajon (A, C); konídiumai (B, D, obj.: 40x))

(Kovács, 2014, 2015)

4.8.2.3 *Fusarium* sp. morfológiája

A *Fusarium* fajok pelyhes, fehér, rózsaszínes vagy akár vörös színű telepeket is képezhetnek (34/A., 34/C. ábra). A *Gibberella zeae* (anamorf: *Fusarium graminearum*) askospórái az általunk vizsgált izolátumnál 13-19 μm között alakult (34/B., 34/D. ábra).



34. ábra: *Fusarium* sp. morfológiája

(tenyészet burgonya-dextróz agar táptalajon (A, C); konídiumai (B, D, obj.: 40x))

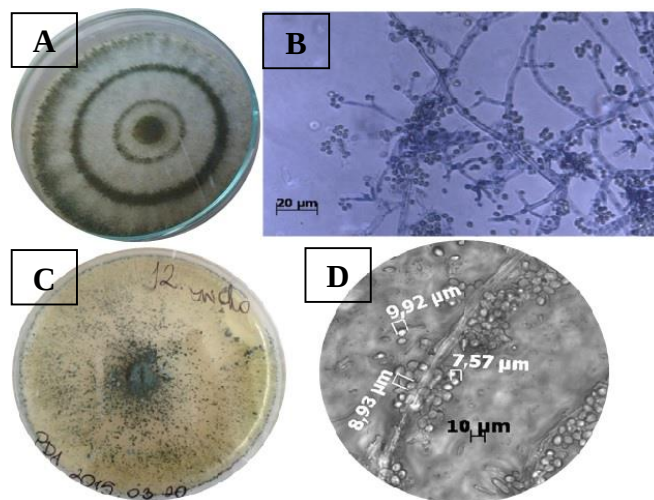
(Kovács, 2013, 2014)

4.8.2.4 *Trichoderma* sp. morfológiája

A hifafonalaik rendkívül vékonyak, mely a tricho ('thrix') hajszál jelentésű görög eredetű szóból eredeztetett. Gyors növekedésének köszönhetően kiszorítja a patogén kórokozókat a növény környezetéből. Másrészt a trichodermák mikoparazitaként, továbbá mikotoxikus vegyületek kiválasztásával (Kubicek et al., 2007) a tökebetegségeket okozó farontó, parazita gombák károsító hatását gátolhatják.

A *Trichoderma* fajok potenciális biopeszticideknek tekinthetők, egyes törzseiket növényi betegséget okozó patogének ellen alkalmazhatják. Gyors növekedésű, légmicéliumokat termelő fajok. Növekedésük optimális hőmérséklete általában 30°C. A konídiumtartói a hifákon képződnek, konídiumai egysejtűek, melyek tömegben fehér színűek vagy a zöldes árnyalatúak (Kövics, 2009).

Táptalajon elszórtan vagy koncentrikus körökbe rendeződve helyezkednek el (35/A., 35/C. ábra). A konídiumok változatos alakúak és méretűek lehetnek (35/B., 35/D. ábra). Méretük 7-9 μm volt.



35. ábra: *Trichoderma* sp. morfológiája

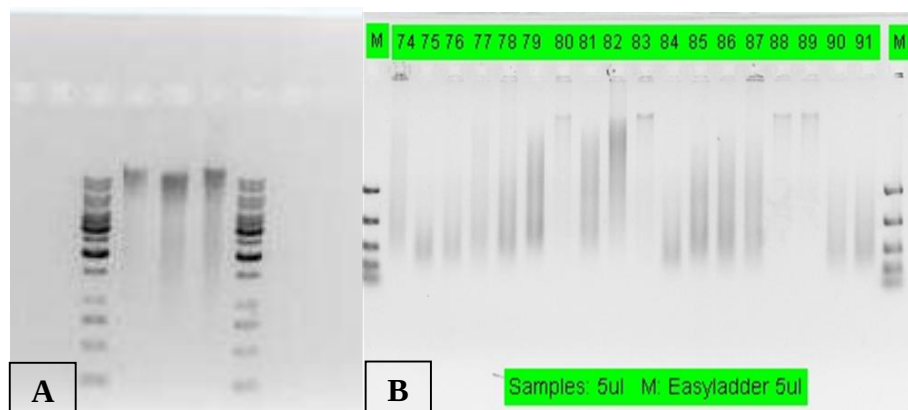
(tenyészet burgonya-dextróz agar táptalajon (A, C); konídiumai (B, D, obj.: 40x))

(Kovács, 2014, 2015)

4.9 Molekuláris vizsgálatok

4.9.1 Genomi DNS izolálása

Az izolált genomi gomba DNS-ek nem tartalmaztak RNS-t és a töredezettség mértéke sem volt jelentős (36/A., 36/B ábra).

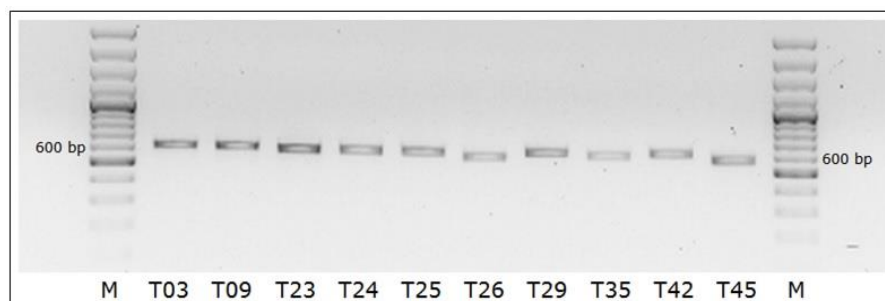


36. ábra: A gomba izolátumok DNS-ének futtatása 0,8%-os agaróz gélben (A, B)

Első és utolsó sáv: DNS marker (FastRuler High Range DNA Ladder, Fermentas). Többi sáv: izolált DNS)

4.9.2 Izolátumok ITS amplifikációja PCR reakcióval

A PCR reakció során kapott ITS régiókat is tartalmazó rDNS fragment nagysága körülbelül 600 bázispár volt. A látható különbségek a futtatás során az egyes izolátumok ITS régiójának szekvenciahossz különbségeit jelezték. Ezek az eltérések más-más fajokat jeleznek. A gélképen néhány izolátum ITS1 és ITS2 szakaszait is tartalmazó rDNS régiójának agaróz gélelektroforézis képe látható (37. ábra).



37. ábra: Néhány szőlőtőkéről származó endofita gomba ITS1 és ITS2 szakaszait is tartalmazó rDNS fragmentum agaróz (1, 5%) gélelektroforézis képe.

M: GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentas), T03-T45: szőlőtőkéből izolált endofita gombák izolátum száma

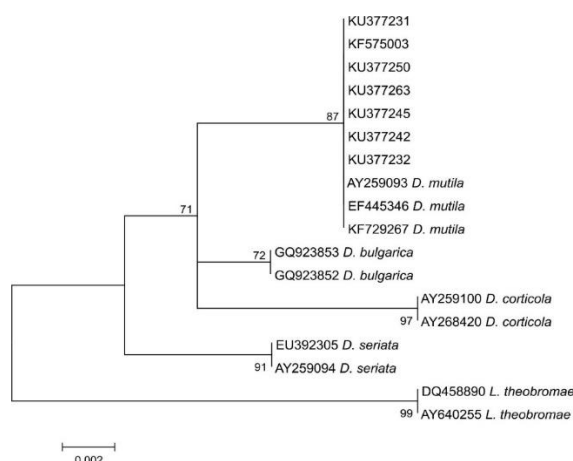
A tünetet mutató tökemintákból öt különböző gombafajt sikerült izolálni (*D. seriata*: T03, T09, T29), (*E. nigrum*: T26, T45), (*Phomopsis mali*: T42), (*Fusarium tricinctum*: T35), (*A. alternata*: T23, T24, T25).

4.9.3 A szőlőtőkéből izolált endofita és GTD patogén gombák filogenetikai elemzése Maximum Likelihood (ML) analízissel

4.9.3.1 A *Diplodia mutila* izolátumok filogenetikai elemzése ITS szekvencia alapján

Az izolátumok közötti rokonsági kapcsolat elemzéséhez Maximum Likelihood (ML) analízist alkalmaztunk. Megállapítottuk, hogy az izolált GTD patogének ITS szekvenciája nagy hasonlóságot mutat a BLAST analízissel összehasonlított NCBI adatbázisban található típustörzsek deponált szekvenciáival. Az ML elemzést MEGA 6.0. programmal végeztük (Tamura et al., 2013).

A saját izolátumok típustörzsekkel történő összehasonlítása során 100%-os egyezőséget találtunk. Hat Furmint tőkéről, hat izolátumot *D. mutila* (anamorf: *B. stevensii*) fajnak azonosítottunk. A rokonsági kapcsolatok feltérképezéséhez a *D. mutila* típustörzsek mellett *D. seriata*, *Diplodia bulgarica*, *Lasiodiplodia theobromae* és *Diplodia corticola* fajokkal történő összehasonlítást is alkalmaztunk (38. ábra).

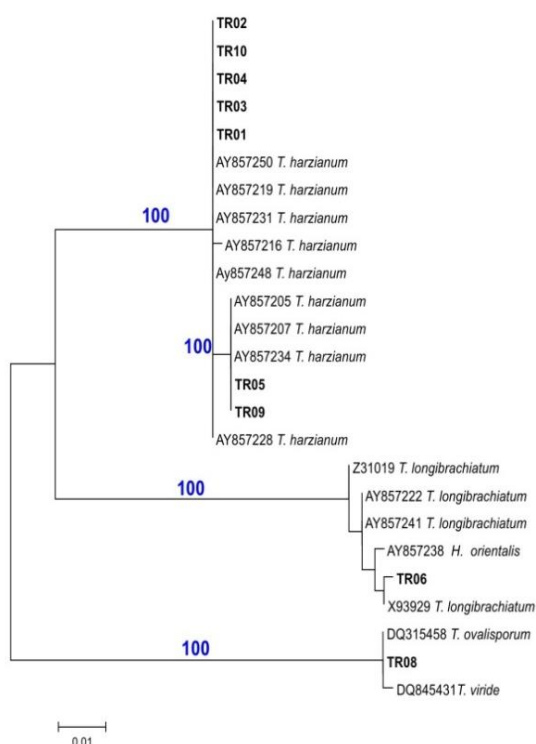


38. ábra: *D. mutila* izolátumok ML analízissel szerkesztett filogenetikai törzsfája

Az elágazások hossza arányos a nukleotid eltérések számával, a skála alul található. Az elágazások melletti látható szürke szám a bootstrap analízis (1000 ismétlés) eredményét jelöli, míg fajnevek előtt az NCBI adatbázisban található deponált törzsek nyilvántartási számait (Accession Number) láthatjuk, melyekkel a saját izolátumainkat összehasonlítottuk. Az 50%-nál nagyobb értékeket jelöltük a törzsfán. A KU kezdetű nyilvántartási számú szekvenciák saját izolátumaink szekvenciái.

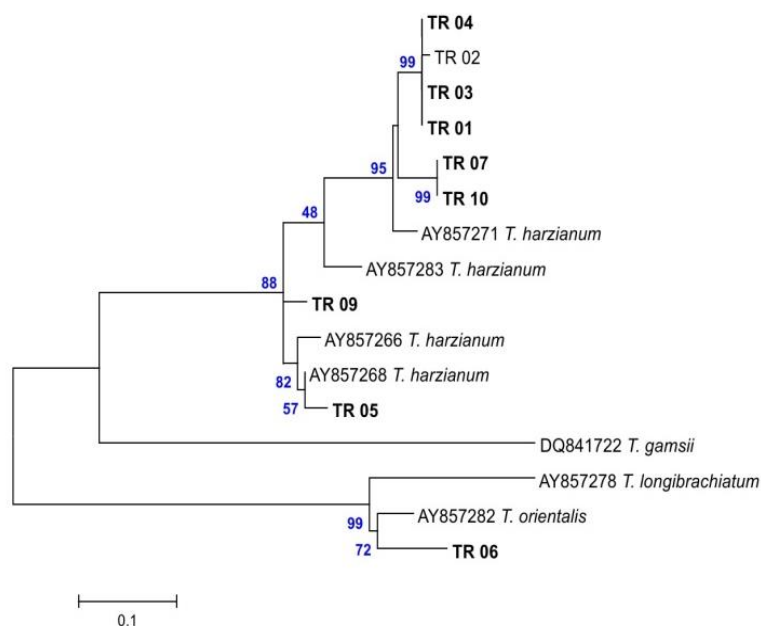
4.9.3.2 *Trichoderma* izolátumok filogenetikai elemzése *tef1* szekvenciái alapján

A biológiai védekezés kialakításához felhasználható élő, tünetet nem mutató fás szövetből izolált *Trichoderma* törzsek identifikálása először ITS szekvencia alapján történt (39. ábra). A *Trichoderma* törzsek pontos taxonómiai besorolásához elengedhetetlen a *tef1* (transzlációs elongációs faktor alfa 1) génszekvencia ismerete is. Az ITS szekvenciához hasonlóan a *tef1* szekvencia elemzéséhez is Maximum Likelihood (ML) analízist alkalmaztunk. A filogenetikai törzsfák készítéséhez saját izolátumaink mellett a GenBank adatbázisból további típus-törzseket vontunk be. A *tef1* szekvencia segítségével a törzsek egymástól jól elkülöníthetőek voltak (40. ábra). *Trichoderma* izolátumaink közül legtöbb a *T. harzianum* taxonba tartozik (TR01-05, TR 07, TR09-10). Egy izolátum (TR06) *Trichoderma orientale*, egy pedig (TR08) *Trichoderma viride*.



39. ábra: *Trichoderma* izolátumok ITS szekvencia alapján szerkesztett filogenetikai törzsfája

A dendrogramon látható elágazások hossza arányos a nukleotid eltérések számával, a skála alul, középen található. Az elágazásoknál látható kék szám a bootstrap analízis (1000 ismétlés) eredményét jelöli, míg fajnevek előtt az NCBI adatbázisban található deponált törzsek nyilvántartási számait (Accession Number) láthatjuk, melyekkel a saját izolátumainkat összehasonlítottuk. Az 50%-nál nagyobb értékeket jelöltük a törzsfán. A TR01-10 saját izolátumainkat jelöli.

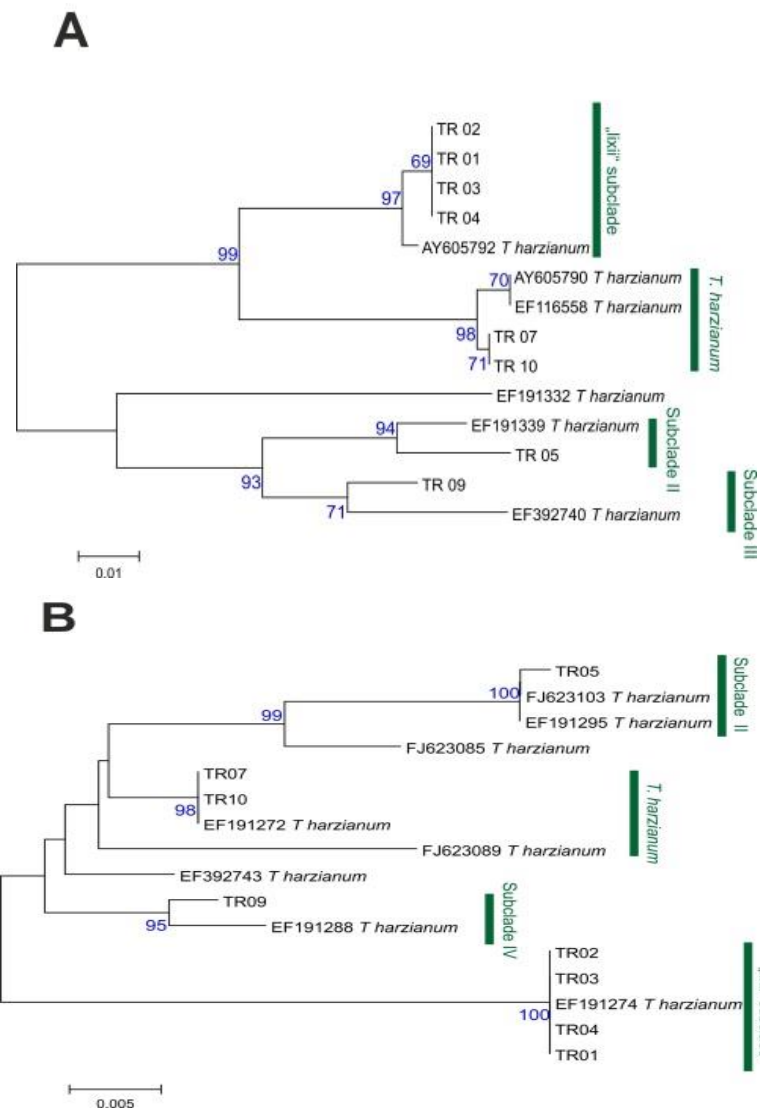


40. ábra: *Trichoderma* izolátumok *tef1* szekvencia alapján szerkesztett filogenetikai törzsfája

Az elágazások hossza arányos a nukleotid eltérések számával, a skála alul, középen található. Az elágazások melletti látható kék szám a bootstrap analízis (1000 ismétlés) eredményét jelöli, míg fajnevek előtt az NCBI adatbázisban található deponált törzsek nyilvántartási számait (Accession Number) láthatjuk, melyekkel a saját izolátumainkat összehasonlítottuk. Az 50%-nál nagyobb értékeket jelöltük a törzsfán. A TR01-10 saját izolátumainkat jelöli.

4.9.3.3 *Trichoderma harzianum* izolátumok filogenetikai elemzése *tef1* és a kitináz termelésért felelős *chi18-5* szekvenciái alapján

A *Trichoderma* fajok közül a *T. harzianum* fajok pontos taxonómiai besorolásához szükséges a *tef1* gén (41/A. ábra) mellett a kitináz termelésért felelős GH18 (glikozid-hidroláz 18 gén) kitináz (*chi*) 18-5 gén (41/B. ábra) szekvenciái alapján történő elemzés. Ennek alapján izolátumaink a *T. harzianum* alcsoportokba (subclade) tartoznak: *T. harzianum* subclade (TR07, TR10), „*H. lixii*” subclade (TR01-04), Subclade II (TR05). A *tef1* génszakasz vizsgálata esetén a TR09 izolátum a Subclade III-ba, a *chi18-5* szekvencia vizsgálata alapján azonban a Subclade IV-be tartozott.



41. ábra: *T. harzianum* törzsek *tef1* (A) és *chi18-5* (B) gének alapján készített törzsfái

4.9.4 Izolált GTD patogének és endofita gombafajok deponálása

4.9.4.1 Deponált GTD kórokozók

GTD kórokozók közül *Botryosphaeria* sp., *D. mutila*, *D. seriata* és *Diaporthe* sp. fajok ITS szekvenciáit deponáltuk (**3. melléklet**).

7 db *Botryosphaeria* sp. és a *D. mutila* ITS1, ITS2 szekvenciákat tartalmazó rDNS szakaszát KU377209 (*Botryosphaeria* sp.); KU377231-232; KU377242; KU377245; KU377250; KU377263 nyilvántartási számokkal deponáltunk az adatbázisba.

68 db *D. seriata* ITS1, ITS2 szekvenciákat tartalmazó rDNS szakasza az alábbi nyilvántartási számokkal található meg az NCBI adatbázisban: KU377167-170; KU377172-187; KU377190-192; KU377194-201; KU377203-204; KU377206-208;

KU377213-217, KU377219-220; KU377223-226; KU377233-234; KU377238; KU377240-241; KU377243-244; KU377246-249; KU377251-254; KU377262; KU377264; KU377266; KU377268-269; KU377274.

Diaporthe sp. fajok esetén az ITS szekvencia alapján 7 db szekvenciát deponáltunk (KU377230; KU377267; KU377278; KU377283; KU377285-286; KU377290).

4.9.4.2 Deponált endofita fajok

Endofita fajok közül *Alternaria* sp., *Bionectria* sp. *Epicoccum nigrum*, *Fusarium* sp., *Mucor* sp., *Phoma* sp., *Peniophora* sp. fajokat sikerült azonosítani az ITS szekvenciák alapján (**3. melléklet**).

Az NCBI adatbázisba 18 db *Alternaria* adatbázisba az ITS1 és ITS2 szakaszokat is tartalmazó rDNS régió szakaszát deponáltuk, melyek az alábbi nyilvántartási számokat kapták: KU377171; KU377188-189; KU377193; KU377202; KU377205; KU377210-212; KU377218; KU377228-229; KU377235-237; KU377270-272.

Egy *Bionectria* (KU377273), egy *E. nigrum* (KU377239), egy *Phoma* (KU377227) és egy *Peniophora* (KU377265) fajt is azonosítottunk a vizsgált fás szövetből.

Ezen fajok mellett 9 db *Fusarium* (KU377222; KU377276; KU377280-282; KU377284; KU377287-289) és *Mucor* faj (KU377221; KU377255-261; KU377275) lett azonosítva.

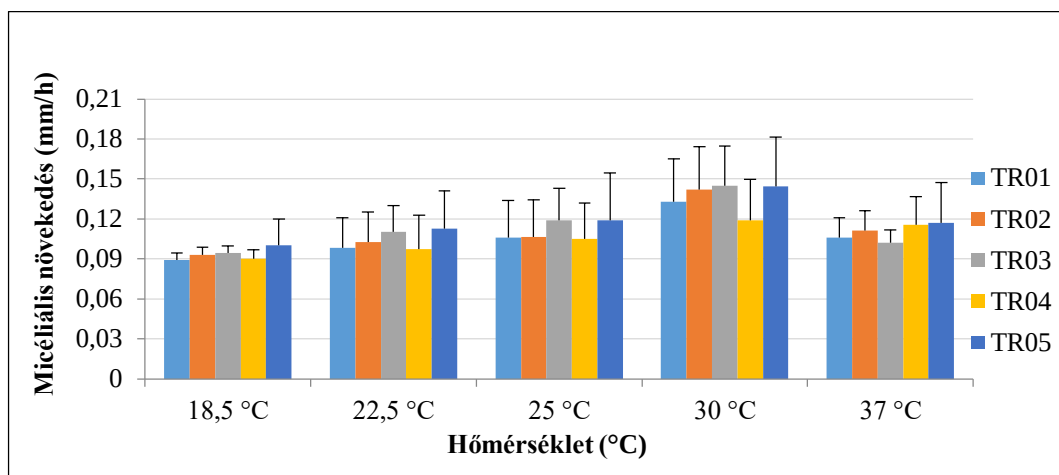
4.10 A tőkeelhalás elleni potenciális védekezési lehetőségek kialakítása

A dolgozatom következő részében a biológiai védekezésben alkalmazható, élő, fás betegség tüneteit nem mutató tőkékről származó *Trichoderma* fajokkal végzett vizsgálatokat mutatom be.

Először az izolátumaink különböző hőmérsékleten történő *in vitro* micéliális növekedését vizsgáljuk. A vizsgálat szükségességét az indokolta, hogy megtaláljuk, melyek lehetnek a legalkalmasabbak biopeszticidként való felhasználásra. Vizsgáltuk továbbá a GTD kórokozókkal szembeni mikoparazita képességüket is. A szelektált törzseket szabadföldi kísérletben (*in vivo* körülmények között) is kipróbáltuk. Célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk, kijuttatását követően mennyi ideig maradnak fenn a fás szövetekben.

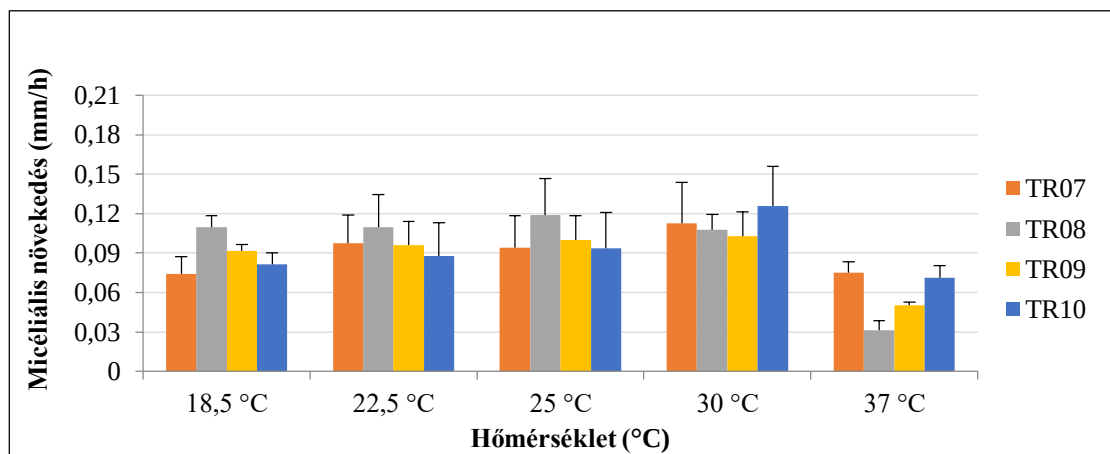
4.10.1 Endofita *Trichoderma* izolátumok micéliális növekedése

A vizsgált *Trichoderma* izolátumok eltérő növekedési képességgel rendelkeztek a különböző vizsgált hőmérsékleteken. A *T. harzianum* izolátumok közül a H. lixii subclade-be tartozó TR01-04, illetve a Subclade II-be tartozó TR05 (41. ábra) hasonló növekedési aktivitást mutattak 18,5-25°C közötti hőmérsékleten. Növekedési optimumuk 30°C-on volt, míg 37°C-on növekedésük sebessége csökkent (42. ábra).



42. ábra: TR01-TR05 *T. harzianum* izolátumok növekedése 18,5-37°C között

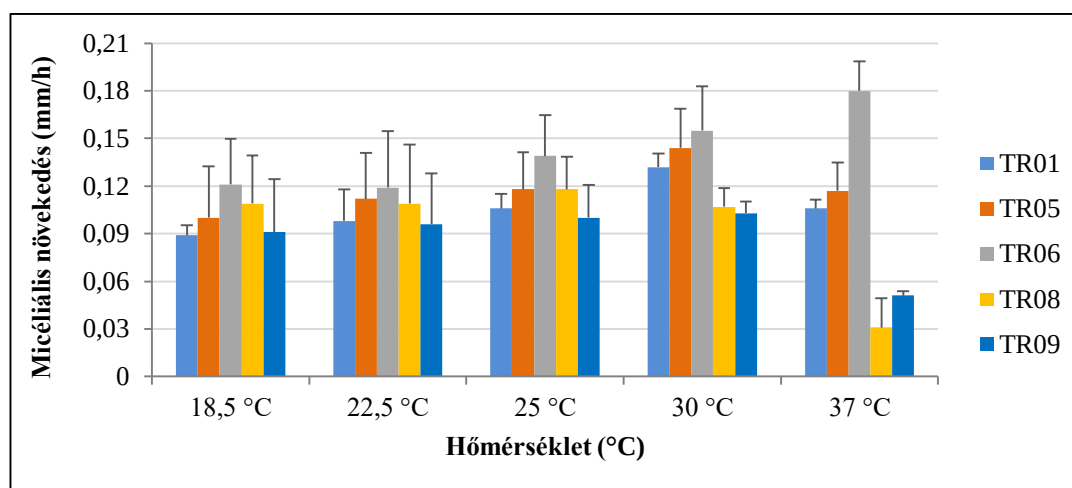
A filogenetika elemzés alapján különböző csoportokba (Subclade, 41. ábra) sorolható *T. harzianum* izolátumok (TR01 – H. lixii subclade, TR05 – Subclade II., TR07 – *T. harzianum* subclade, TR09 – Subclade III. (*tef1* szekvencia vizsgálatánál, IV. (*chi18-5* génszakasz vizsgálatánál)) és a *T. viride* (TR08) a legmagasabb vizsgált hőmérsékleten (37°C) lassabban nőttek, mint 18,5-30°C között. (43., 44. ábra).



43. ábra: TR07-TR10 *Trichoderma* izolátumok micéliális növekedése

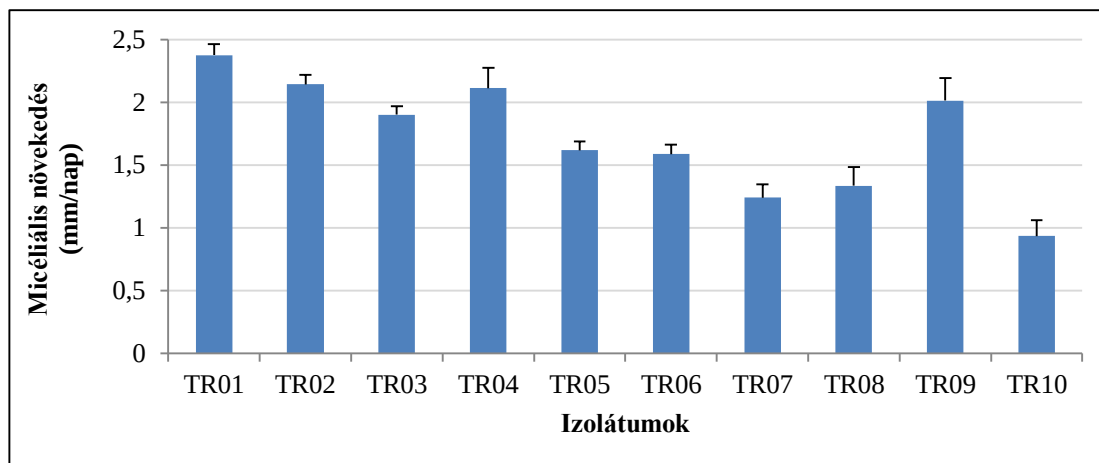
A *T. orientale* (TR06) izolátum micéliális növekedése gyorsabb volt, mint a másik két fajba (*T. harzianum*, *T. viride*) tartozó izolátumoké (42. ábra).

A *T. orientale* minden vizsgált hőmérsékleten gyors növekedést mutatott. A TR01 és TR05 *T. harzianum* izolátumokra 37°C-on alacsony növekedés volt jellemző (44. ábra). A TR08 *T. viride* és TR09 *T. harzianum* izolátumok is alacsonyabb növekedési aktivitással rendelkeztek a vizsgált izolátumokhoz képest a legmagasabb hőmérsékleten (43., 44. ábra).



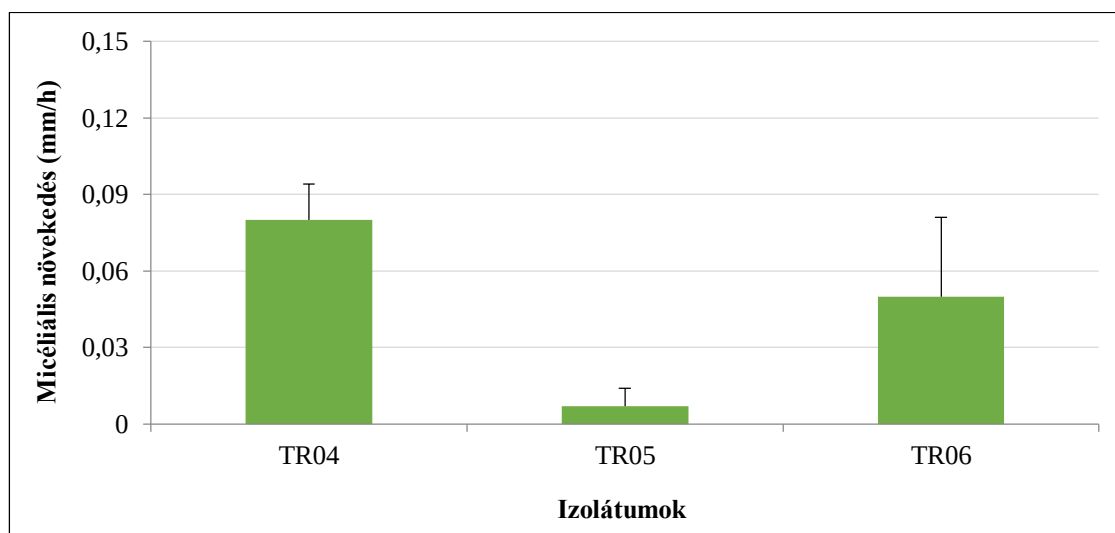
44. ábra: *T. harzianum* (TR01, TR05, TR09), *Trichoderma viride* (TR08) izolátumok micéliális növekedésének összehasonlítása a *Trichoderma orientale* (TR06) izolátum növekedésével

Az izolátumok növekedése 5°C-on csak egy hét elteltével indult meg. A legintenzívebb növekedést a TR01 (*T. harzianum*, *H. lixii* subclade) izolátum mutatta. Alacsony növekedést a *T. harzianum* subclade-be tartozó TR07 és a TR10 *T. harzianum* izolátumok mutattak (45. ábra).



45. ábra: *Trichoderma* izolátumok micéliális növekedése 5°C hőmérsékleten

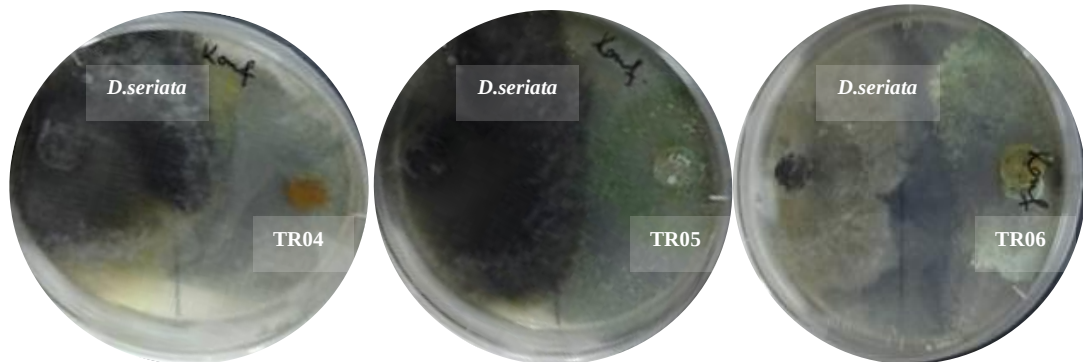
12°C-os hőmérsékleten három izolátum (TR04, TR05, TR06) növekedését vizsgáltuk, melyek közül két izolátum 2014 májusában spóra szuszpenzió formájában került kijuttatásra tünetes szőlőtőkék kezelésére. A TR04 elsősorban az alacsony hőmérsékleteken mutatott intenzív növekedést (**42., 43., 44., 45. ábra**). A TR06 (*T. orientale*) izolátum 12°C-on alacsonyabb növekedést mutatott a TR04 (*T. harzianum*) izolátumhoz képest (**46. ábra**).



46. ábra: *Trichoderma harzianum* (TR04, TR05) és *Trichoderma orientale* (TR06) micéliális növekedése 12°C hőmérsékleten

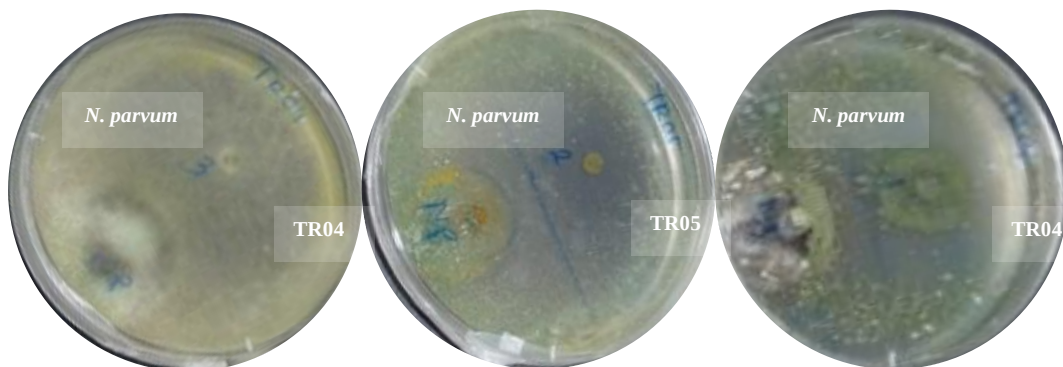
4.10.2 *Trichoderma* izolátumok mikoparazita képességének vizsgálata

A *Trichoderma* izolátumok kompetíciós képességét tökeelhalást okozó kórokozó gombák (*D. seriata*, *N. parvum*), valamint egy eddig kórokozóként még nem leírt faj (*F. oxysporum*) ellen teszteltük. Minden vizsgált izolátum Biokontroll-Index (BCI) értéke 100% volt, vagyis a *Trichoderma* izolátumok ránőttek a kórokozókra. Minden vizsgált izolátum esetén megfigyelhető volt a mikoparazita pusztító hatása (47., 48., 49. ábra).



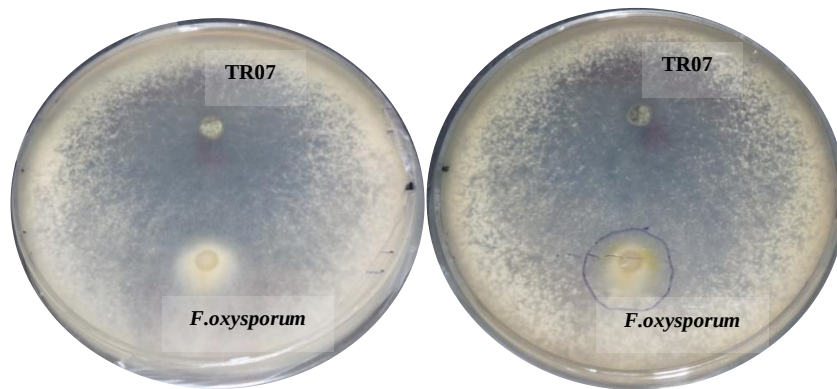
47. ábra: TR04, TR05 *T. harzianum* és TR06 *T. orientale* izolátumok mikoparazita képessége *D. seriata* patogénnel szemben

(Kovács, 2014)



48. ábra: TR04, TR05 *T. harzianum* és TR06 *T. orientale* izolátumok mikoparazita képessége *N. parvum* patogénnel szemben

(Kovács, 2014)

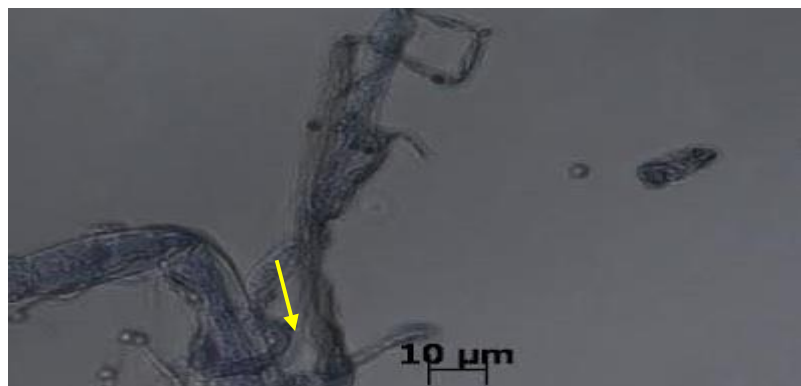


49. ábra: A TR07 - *F. oxysporum* interakciója

(4. nap: 63,6%; 6. nap: 82,6%)

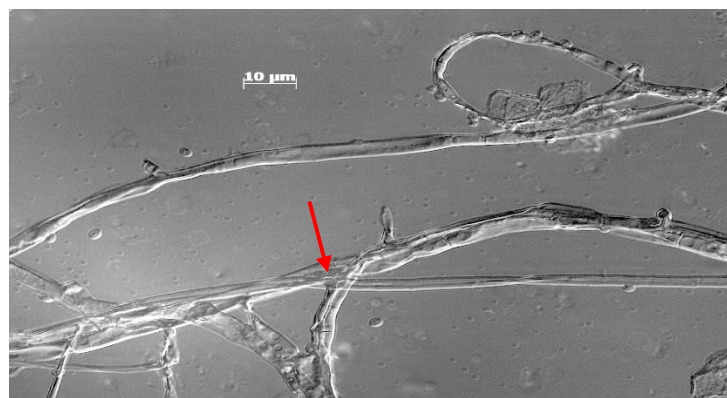
(Kovács, 2014)

A mikroszkópos képen látható, hogy a *T. harzianum* rátekeredik a parazitált gomba (*D. seriata*, *F. oxysporum*) hifájára, majd appresszóriumot fejleszt és sejtfalbontó enzimeket termelve elpusztítja a patogén gombát (Kotze et al., 2011) (50., 51. ábra).



50. ábra: A *D. seriata* köré tekeredő *T. harzianum*

(Kovács, 2014)



51. ábra: *T. harzianum* rátekeredése a *F. oxysporum* patogén hifafonalára

(Kovács, 2014)

4.10.3 *Trichoderma* spórákészítmény alkalmazása szabadföldi kísérletben

A kísérletet 2014.05.06.-án a Tokaji Borvidék Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet kísérleti ültetvényében állítottuk be. A kijuttatott spóra szuszpenzió 10^7 sejt/ml koncentrációjú volt. A spóra szuszpenzió összeállítása esetén figyelembe vettük az alkalmazásra került izolátumok (TR04, TR05 (*T. harzianum*)) eltérő hőmérsékleten történő növekedését, valamint tőkeelhalást okozó patogének elleni mikoparazita képességét.

A készítményből a metszési sebek felületére a felület nagyságától függően egyszer, vagy kétszer fűjtünk.

A kísérletbe bevont tőkét havonta ellenőriztük (fotóztuk és a betegség jelenlétét vizsgáltuk). Három hónap és egy év után a kezelt tőkéből újra mintákat gyűjtöttünk be. A **52. ábrán** 2014-ben *Trichoderma* spóraszuszpenzióval kezelt/kezeletlen Tarcal 26-os fajta egy-egy tőkéje látható. 3 hónappal és egy évvel később is a kezelést követően sikerült visszaizolálni a *Trichoderma* fajt. 2015-ben a kezelt tőke intenzívebb hajtásnövekedést mutatott a kezeletlen tőkével szemben, emellett a fürtök méretében is eltérést tapasztaltunk (**53. ábra**). A kijuttatott, több fajt is tartalmazó készítményből a TR04 és a TR05 (*T. harzianum*) izolátumokat sikerült visszaizolálni.



52. ábra: Tarcal 26 fajta a *Trichoderma* kezelés nélkül és *Trichoderma* kezelést követő 10 hónappal
(Kovács, 2014)



53. ábra: Tarcal 26 fajta fürtök kezelt/kezeletlen tőkén

(Kovács, 2014)

A **11. táblázat** mutatja a szabadföldi kísérletünk eredményeit 2014-ben. Négy vizsgált tőke esetén nemcsak a látható tünetek csökkentek, hanem vissza is tudtuk izolálni a *Trichoderma* törzseket (**52. ábra**) 3 hónappal később. A többi vizsgált tőke esetén három hónap után, csak a tünetek csökkenését tapasztaltuk. A III. sor 1. tőke nem hozta a várt eredményt. Utólagos vizsgálattal megállapítottuk, hogy a tőke már elpusztult korábban, a kezelés előtt.

11. táblázat: *Trichoderma* szabadföldi kísérlet eredményei (1-3 hónap)

Vizsgált tőkék	1. hónap után (2014.06.06.)	2. hónap után (2014.07.06.)	3. hónap után (2014.08.11.)
III. sor 1. tőke	Látható levéltünet	Hajtáspusztulás	Hajtáspusztulás
VI. sor 5. tőke	Látható levéltünet	Levéltünet csökkenés	
VII. sor 6. tőke	Nincs levéltünet		
IX. sor 4. tőke	Csökkent hajtásnövekedés, nincs levéltünet		
X. sor 9. tőke	Nincs levéltünet		
X. sor 8. tőke (tünetes kontroll)	Hajtásszám növekedés, nincs levéltünet		
XI. sor 14. tőke	Csökkent levéltünet és hajtásnövekedés		
XII. sor 3. tőke			
XXII. sor 10. tőke (tünetmentes kontroll)	Nincs levéltünet		
XXII. sor 11. tőke			
XXII. sor 12. tőke			
XXVIII. sor 10. tőke			
XXIX. sor 10. tőke			
XXIX. sor 13. tőke (tünetes kontroll)			

5 KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A betegség előfordulási gyakorisága jelentős különbséget mutatott a különböző vizsgálati években, eltérő időjárási viszonyok mellett az egyes területeken. A 2., 4. és 5. (Dorgó, Bakonyi és Szarvas) dűlőkön a betegség előfordulása nem mutatott egyértelmű tendenciát a három év alatt. A vizsgált abiotikus és biotikus tényezők (évjárat, ültetvény kora, fajta, topológia, a talajtípus) között szignifikáns eltérés volt tapasztalható a betegség megjelenési gyakorisággal való összehasonlítása esetén.

12. táblázat: Statisztikai elemzés eredménye a biotikus és abiotikus tényezők és a betegség megjelenési gyakoriság (DI%) összefüggésében a Tokaji Borvidéken 2013 és 2015 között

Tanulmányozott tényezők	p*	Kategóriák	Átlag DI érték (±SD)
Topológia	<0,001	lejtő	1,86 (1,63)
		sík	20,16 (15,1)
Talaj	<0,001	lössz	1,32 (1,35)
		erőtalaj eredetű lejtőhordalék	15,99 (14,93)
Évjárat	0,953	2013	8,6 (12,29)
		2014	10,33 (14,60)
		2015	10,18 (15,14)
Fajta	0,354	Furmint	14,34 (18,81)
		Hárslevelű	8,24 (5,66)
Kor**	0,006	<15	2,56 (2,38)
		>15	19,59 (17,21)

*Szignifikancia szint Mann-Whitney U teszttel, kéttényezős varianciaanalízissel (ANOVA), Kruskal-Wallis nem paraméteres próbával

**2013-ban

A különböző vizsgálati években, illetve a két összehasonlított szőlőfajta (Furmint, Hárslevelű) megjelenési gyakorisága (DI) nem mutatott szignifikáns eltérést. Az ültetvények átlagos DI értéke a különböző vizsgált években nem mutatott szignifikáns eltérést (Kruskal-Wallis teszt: $H=0,0967$, $df=2$, $n=21$, $p=0,953$) (12. táblázat). A DI értéke 2014-ben volt a legmagasabb a Szemere (1) és a Szarvas (5S) ültetvényekben. A Dorgó (2) esetén csökkenő tendencia volt megfigyelhető, míg a Várhegy (3) területnél nem volt megfigyelhető változás a DI értékében a három vizsgálati évben.

Az ültetvények elhelyezkedését tekintve a lejtős területre telepített ültetvények esetén a DI értéke szignifikánsan alacsonyabb volt a sík területéhez képest. Ezt a különbséget a Szarvas dűlő esetén részletesebben vizsgáltuk.

Az ültetvények talajait tekintve megállapítható, hogy a lösz talajon szignifikánsan magasabb volt a DI értéke, mint az eredőtalaj eredetű lejtőhordalék esetén (10 szerez különbség).

A Bakonyi ültetvényben a Furmint (4F) és a Hárslevelű (4H) területek között nagy különbség volt a betegség megjelenés gyakoriságát tekintve, azonban ez a hatás nem volt általánosan bizonyítható. Megállapítottuk, hogy a Várhegy (3) dűlőn telepített 125AA alannal rendelkező Zéta fajta esetén volt a legkisebb a DI értéke (0,17%).

Az ültetvények kora hatással volt a DI értékére. Az idősebb ültetvényekben ($19,59 \pm 17,21$) ugyanis szignifikánsan magasabb volt a betegség megjelenési gyakorisága a fiatal ültetvényekhez képest ($2,56 \pm 2,38$) (**12. táblázat**). Az ültetvény kora, mint biotikus tényező meghatározó volt a GTD tünetek megjelenésének tekintetében.

A legtöbb tünetes növényben GTD kórozóként *D. seriata* fajt a lehető izolálni valamennyi vizsgált ültetvényben. Az említett kórokozó izolálási gyakorisága a tüneteket mutató növényekből 94 és 100% között változott. Fás betegséget okozó kórokozóként még *Diaporthe* fajokat is izoláltunk, melyek gyakorisága jóval alacsonyabb volt. Ezen fajok mellett kórokozóként még *D. mutila* fajt is sikerült identifikálni, azonban csak egy évben (2013) és egy ültetvényből (4F).

A GTD kórokozók mellett endofita fajok is megtalálhatóak voltak a tőkékben (*Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Aureobasidium* sp., *Bionectria* sp., *Epicoccum* sp., *Fusarium* sp., *Mucor* sp., *Phoma* sp., *Phenophora* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp.). Rábai et al. (2008) szintén hasonló endofitákat azonosított a GTD patogének mellett a metszési sebből vett mintavételezés folyamán. Bruez et al. (2014) metagenomikai elemzéssel bizonyította jelenlétüket a fás szövetben.

A fás betegség elleni potenciális védekezési lehetőség kialakításához általunk izolált, élő, tünetmentes tőkékről származó *Trichoderma* fajok vizsgálatát végeztük el. A micéliális növekedés mérése során megállapítottuk, hogy izolátumaink különböző beállított hőmérsékleteken ($18,5-37^{\circ}\text{C}$) eltérő növekedést mutatnak. A későbbiekben kijuttatott TR04 és TR05 izolátumok 37°C -on csökkent növekedést mutattak, növekedési optimumuk 30°C hőmérsékleten volt. Intenzív növekedést mutattak $18,5$ és 25°C között. Az *in vivo* körülmények között is kipróbált izolátumaink 5 és 12°C -os hőmérsékleten is növekedtek. A TR04 izolátum emellett 5°C -on is intenzív növekedést mutatott. Az

eredmények alapján ezek a törzsek a tavaszi metszést követően is kijuttathatóak lehetnek a metszési sebek felszínére, hiszen jól adaptálódtak a hűvösebb körülményekhez is.

A mikoparazita képesség vizsgálatát tekintve megállapítottuk, hogy ezen izolátumok alkalmazhatóak lehetnek a GTD kórokozók ellen védekezési lehetőségként, hiszen 100%-os Biokontroll-Indexszel rendelkeztek. Szabadföldi kísérletben a kijuttatott izolátumokat 3 hónap és 1 év elteltével is vissza tudtuk izolálni. Emellett pedig látványos különbségeket mutatott a *Trichoderma* spóraszuszpenzióval kezelt növény a kezeletlennel szemben a hajtás növekedésben, valamint a fűt méretében egyaránt.

Összességében megállapítható, hogy ezen izolátumok (TR04-TR05) tág hőmérsékleti intervallumban képesek növekedni, így együttes kijuttatással, alkalmazhatóak lehetnek biopeszticidként, hiszen kiegészítik egymást mind a micéliális növekedés, mind a mikoparazita képesség tekintetében.

6 ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Az eltérő talajok a szőlőtőkék fás részeinek elhalását okozó kórokozókkal való fertőzés gyakoriságát a Tokaji Borvidéken befolyásolták. Bizonyítottuk, hogy lösz alapkőzetten szignifikánsan magasabb volt a betegség megjelenésének mértéke, mint az erdőtalaj eredetű lejtőhordalékos talaj esetén. Az ültetvény kora is meghatározó lehet a betegség korhadásos tünet megjelenésének tekintetében. Az idősebb ültetvényekben szignifikánsan nagyobb volt a fás betegség megjelenése, mint a fiatal ültetvényekben különböző fajták és talajok esetén is. Az ültetvények kialakítása (lejtős, sík) is befolyásolta a betegség kialakulását. A lejtős területen kevésbé volt jellemző a betegség kialakulása, mint a síkabb, vagy mikroteraszos ültetvényrészen, ahol az ültetvény kialakítása nem kedvez a víz gyors elfolyásának, ami kedvező körülményeket biztosíthat a kórokozók elszaporodásához.

2. A Tokaji Borvidéken végzett vizsgálat alapján a szőlőültetvényekben a GTD patogének közül legnagyobb arányban a *D. seriata* fordult elő. Kisebb arányban *Diaporthe* sp. fajt is sikerült identifikálni. Hét tőkéről *D. mutila* kórokozót azonosítottunk, mely a Furmint fajtán részleges elhalást okozott.

3. A monitorozott ültetvényeken endofita gombafajokat (*Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Epicoccum* sp., *Fusarium* sp., *Mucor* sp., *Penicillium* sp., *Peniophora* sp., *Pleosporales* sp., *Trichoderma* sp., *Xanthomendoza* sp. (zúzmó gomba szimbiontája), *Xylaria* sp.) először azonosítottunk. Jelenlétük a vizsgált három évben változó volt.

4. Élő, tünetmentes tőkékről *Trichoderma* fajokat izoláltunk. A *Trichoderma* törzsek taxonómiai azonosítását több markerszekvencia alapján végeztük el. Az ITS1, ITS2 szakaszokat is tartalmazó rDNS régió mellett a pontos fajazonosításhoz a *tef1* szekvenciát is meghatároztuk. A *Trichoderma* három taxonba tartoztak: *T. orientale*, *T. viride*, *T. harzianum*. A *T. harzianum* fajok esetén tanulmányoztuk a chi18-5 (korábban: *ech42*) kitináz termelésért felelős génjének szekvenciáját.

5. Az identifikált *Trichoderma* fajok micéliális növekedését és mikoparazita képességét *in vitro* körülmények között vizsgáltuk, mely a biopeszticidként való felhasználási lehetőségeinek meghatározását célozta. Izolátumaink eltérő növekedési képességgel rendelkeztek a különböző, beállított hőmérsékleteken (5; 12; 18,5; 22,5; 25; 30; 37°C).

Több izolátumunk alacsony hőmérsékleten intenzív növekedést mutatott, ebből arra következtettünk, hogy a tél végi, kora tavaszi metszés időszakában is kijuttathatóak.

6. A *Trichoderma* izolátumok mikoparazita képességének megállapítása érdekében meghatároztuk a Biokontroll Indexet (BCI), melynek értéke minden vizsgált izolátum esetén 100% volt. Mikoparazita képességüket vizsgálva arra következtettünk, hogy potenciális biopeszticidként alkalmazhatóak GTD patogének ellen.

7 GYAKORLATBAN ALKALMAZHATÓ EREDMÉNYEK

1. A Tokaji Borvidéken történő tőkeelhalás betegség 2013 és 2015 közötti felmérésének eredményeképpen megállapítottuk, hogy a borvidék vizsgálatba vont ültetvényei esetén a GTD patogének közül, a *D. seriata* volt jelen a legnagyobb arányban a tőkék felső részében (kordonkar, törzs felső része).

2. Tünetmentes szőlőtőkék fás szöveteiből izolált *Trichoderma* fajok biopeszticidként való alkalmazása kis mintaszámú kísérletekben eredményes volt a GTD tüneteinek visszaszorításában a metszési seben, a vegetációs periódus elején alkalmazva.

3. A fás szövetből izolált *Trichoderma* fajok micéliális növekedésének vizsgálatával a hazai éghajlati körülményekhez való alkalmazkodó képességüket és optimális hőmérsékleti tartományukat vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy több izolátum (TR01, TR02, TR04, TR05, TR06) potenciális biopeszticidnek tekinthető, hiszen tág hőmérsékleti tartományban képesek növekedni. A spóra szuszpenzióhoz történő kiválasztás fő szempont volt az alkalmazkodó képesség teszteléséhez. A TR04 izolátum elsősorban alacsony hőmérsékleten mutat intenzív növekedést, mely a korai kijuttatás szempontjából nagyon fontos.

4. A kompetíciós képesség *in vitro* vizsgálatával arra a megállapításra jutottunk, hogy az izolátumok alkalmasak a GTD-vel szembeni hatékony védekezésre, hiszen 100%-os Biokontroll Indexszel rendelkeztek, elpusztították a tesztelt kórokozókat.

5. Az *in vivo* kísérletben megállapítottuk, hogy a kijuttatott *Trichoderma* fajok csökkentették a vegetatív szerveken a betegség jellegzetes tüneteit, emellett 4 tőkéből visszaizoláltuk a *Trichodermát* három hónapos és egy éves kísérlet után. A tünetes kontroll tőkéken sem mutatkoztak a tőkeelhalás tünetei, valószínűleg a közelükben lévő tőkék kezelésének köszönhetően.

6. A szőlő fás szöveteiből izolált törzseink hatékonyan tudták kolonizálni a növényi szöveteket, amit elő kísérleteink is bizonyítanak. Emellett alacsonyabb hőmérsékleti körülmények között is képesek növekedni, sőt spórát képeznek, ami a szabadföldi alkalmazásuk hatékonyságát jelentősen megnöveli. A sikeres kolonizáció esetén hosszú távú pozitív hatások (szőlő növekedés serkentése, tápanyagfelvételének elősegítése,

illetve növényi kórokozó gombákkal szembeni bioantagonista és mikoparazita hatás) várhatóak.

8 ÖSSZEFOGLALÁS

A szőlőtőke korai pusztulásához vezető megbetegedéseket többféle, különböző betegség néven írják le a kórokozó gombafajtól függően. A betegségek esetében több közös jellemző is megfigyelhető, ezért a szőlőtőke fás betegségeit (Grapevine Trunk Diseases-GTD) összefoglaló néven emlegetik világszerte (Bertsch et al., 2013; Urbez-Torres et al., 2013). A megbetegedés jelen lehet látens módon is, úgy, hogy a látható tünetek csak évekkel később jelennek meg (Lehoczky, 1974; Cristinzio, 1978; Phillips, 2002; Auger et al., 2004; Marchi et al., 2006; Van Niekerk et al., 2006; Savocchia et al., 2007; Rego et al., 2008).

A dolgozatomban a Tokaji Borvidéken végzett három éves felmérés (2013-2015) került bemutatásra. 5 szőlőültetvényt vizsgáltunk különböző, a betegség megjelenését befolyásoló biotikus és abiotikus tényezők elemzésével (topológia, talajtípusok, fajta, kor). A kutatómunka során 7606 növényt vontunk be a vizsgálatokba és vizsgáltunk meg minden évben a GTD tünetek jelenlétének felméréséhez. A nagy mintaszám biztosította a biotikus és az abiotikus tényezők elemzéséhez szükséges megbízható adatmennyiséget.

A vizsgált ültetvények tanulmányozása során megállapítottuk, hogy a betegség megjelenési gyakorisága (DI%) között nem volt szignifikáns különbség az egyes vizsgálati években. A Bakonyi dűlőben a vizsgált Furmint (4F) és Hárslevelű (4H) fajtánál tapasztaltuk a legmagasabb arányú (13,78-42,11%) tünetmegjelenést. Ez jóval magasabb arányú volt, mint a hasonló korú, művelési módú, Furmint fajtájú, Dorgó (2) dűlőn vizsgált ültetvény DI értéke (1,88-4,08%). A Szemere (1) és a Szarvas (5) ültetvényekben szintén jóval alacsonyabb (0,55-6,17%) volt a betegség megjelenési gyakorisága mindhárom vizsgálati évben, mint a Bakonyi dűlőben.

Az abiotikus faktorok közül az öntözés, illetve az egyenlőtlen csapadékeloszlás hatásáról a GTD tünetmegjelenésére több tanulmány is beszámol (Lehoczky, 1974; Hewitt és Pearson, 1988a; Bertsch et al., 2013). Bruno et al. (2007), Marchi et al. (2006) és Andolfi et al. (2009) kutatásaikban bizonyították, hogy a lombozati tünetek kialakulásáért a kórokozók által termelt toxinok a felelősek. Surico et al. (2006) és Bertsch et al. (2013) bizonyították, hogy a szárazabb időszakot követő esős időszakban a betegség megjelenése növekszik. Eredményeink is alátámasztják a vízellátás lehetséges szerepét a betegség megjelenésében. A mikroteraszos elrendezésű Bakonyi (4) dűlőben tapasztaltuk a legmagasabb DI értékeket, míg a többi, lejtős elrendezésű ültetvény esetében, ahol a csapadék gyorsan lefolyik, alacsonyabb arányban jelentek meg a tünetek.

A Bakonyi (4) dűlőt követően a Szarvas (5) területen volt megfigyelhető a legmagasabb DI érték (2,13-6,17%). Az ültetvényt a Bakonyi (4) területhez hasonlóan lösz talajra és Teleki 5C alanyra telepítették. A Szarvas (5) dűlőnek azonban van egy alsó terasz-szerű vízszintes része, ahol magasabb volt a betegség megjelenés gyakorisága (5,04-6,15%), összehasonlítva a felső 5-8%-os lejtőre telepített résszel, ahol 2,13 és 3,40% között alakult a DI értéke.

Az időjárási körülmények különbözőek voltak a vizsgált években, de az időjárási tényezők változása (hőmérséklet, csapadék mennyisége) nem eredményezett szignifikáns különbséget az ültetvények átlagos DI értékekben a különböző években, a vizsgált három év alatt. A DI értékek változásának trendje különböző volt a lejtős elrendezésű területeken (Szemere (1), Dorgó (2), Várhegy (3), Szarvas (5S)), azonban a sík területen fekvő ültetvények (4F, 4H, 5L) esetén folyamatosan növekedett a DI értéke 2013 és 2015 között. A Szarvas dűlőben a különböző elhelyezkedésű területen (5L és 5S) a GTD tünetek megjelenése szignifikánsan eltért egymástól a három év átlagos értékeit összehasonlítva. Ez a különbség azonban 2014-ben nem volt megfigyelhető, mivel a nyári időszakban (zöld bogyók érése) magasabb volt a csapadék mennyisége, mely magasabb páratartalmat biztosíthatott a lejtős területeken is.

A talaj hatását a DI értékekre két eltérő talajon vizsgáltuk. A Szemere (2), Dorgó (2) és a Várhegy (3) dűlők erdőtalaj eredetű lejtőhordalék talajjal, míg a Bakonyi (4) és a Szarvas (5) területek lösz talajjal rendelkeztek. A DI értéke a lösz talaj esetén szignifikánsan magasabb volt a másik talajtípussal (erdőtalaj eredetű lejtőhordalék) szemben. Rhoton és Markewich (2006) leírása szerint a lösz jó víztartó képességű, ami hozzájárulhat a löszös területeken tapasztalt GTD betegség magasabb megjelenési arányához. Korábban végzett vizsgálataink is rávilágítottak arra a tényre, hogy a talajnedvesség növeli a betegség megjelenését az ültetvényekben (Kovács et al., 2016).

Megállapítottuk, hogy a talaj vízellátottsága meghatározó szempont lehet a betegség megjelenés tekintetében. Az ültetvény elhelyezkedése, a talajok voltak a legfontosabb abiotikus tényezők, melyek szerepet játszottak a levéltünetek vagy az elhalás kialakulásában. A párás körülmények között a kórokozó gombák aktivitása és reprodukciójuk növekedhet, ezáltal a fertőzési gyakoriság is növekszik, mely vélhetően szintén hatással van a magas DI értékekre. Ugyanakkor az egyre nagyobb kórokozó tevékenység (növekedés vagy toxintermelés), illetve a megkönnyített toxintranszport vélhetően növeli a tünetek megjelenési gyakoriságát.

Az abiotikus tényezők mellett a biotikus tényezők is befolyásolhatják a tünetek megjelenését az ültetvényekben. Ezek közül a fajta (Maher et al., 2012; Murolo és Romanazzi, 2014), az alany típusának (Murolo és Romanazzi, 2014) és a növény korának (Mugnai et al., 1999) hatását bizonyították a GTD megjelenésére.

A fajta vizsgálatát tekintve a Bakonyi (4) dűlőben a Furmint DI értéke magasabb volt a Hárslevelű fajtához képest minden vizsgálati évben. Azonban a Szemere (1) és a Dorgó (2) ültetvényekben a Furmint fajtán megjelenő betegség gyakorisága alacsonyabb (0,8-3,03%) volt a Szarvas (5) Hárslevelű fajtájához képest (3,41-5,40%). Érdekes adat, hogy a Várhegy (3) területen volt a legalacsonyabb a DI értéke (0,17%) a többi vizsgált ültetvényhez képest. Ez a terület azonban egyedülálló tulajdonságokkal rendelkezett, hiszen más fajta (Zéta) és alany (125AA) volt telepítve a területre (Zéta, 125AA alany). Az egyik legfiatalabb vizsgált ültetvényként volt, de a betegség előfordulása jóval alacsonyabb volt, mint a hasonló korú (12 év 2013-ban) és művelési módú Szarvas (5) dűlőben.

A biotikus tényezők közül az ültetvény kora mutatta a legnagyobb hatást a betegség megjelenési gyakoriságára (DI%), hiszen szignifikánsan magasabb volt a DI értéke az idősebb ültetvényekben. Elképzelhető, hogy több tényező okozza ezt, például a különböző GTD patogének kumulált fertőzése, a növényélettani változások, a növény csökkent ellenállása a betegséggel szemben vagy endofita mikroflóra összetételének megváltozása.

A tünetek megjelenésének ismétlődését a Várhegy (3) dűlő kivételével valamennyi dűlőn vizsgáltuk. A három év alatt csak egyszer GTD tüneteket mutató tőkék (időszakos tünetmegjelenés) volt a leggyakoribb a vizsgált ültetvényekben mind az átlagos gyakoriságot (62,42%), mind az összes tünetes növényt (530 fertőzött növény) tekintve (329 növény, 62,08%). Az időszakos tünetmegjelenés 50% fölött (55,17-80%) volt minden vizsgált területen, kivéve a Bakonyi (4H) területet, ahol a mindhárom évben tünetet mutató növények aránya volt a legmagasabb (68%). További érdekesség, hogy a legmagasabb DI érték nem ezen a területen volt megfigyelhető.

Mivel a GTD patogénnel történő fertőzés nem mindig jár a tünetek azonnali megjelenésével és a betegség az egyes években maszkírozódhat (Bertsch et al., 2013), minden területen meghatároztuk a fertőzési gyakoriságot is. A GTD patogének kimutatási gyakoriságát tekintve a *D. seriata* (Phillips, 1998; Taylor et al., 2005; Luque et al., 2009; Úrbez-Torres et al., 2009; Úrbez-Torres, 2011c; Pitt et al., 2013) kórokozó aránya volt jelentős az ültetvényekben, azonban jelenlétük nagyon változó (50-100%) volt a tünetes

és tünetmentes növények vizsgálata esetén. A *D. seriata* izolációs gyakorisága hasonló volt a korábban már Bruez et al. (2014) által metagenomikai elemzésekkel végzett vizsgálatokhoz. Így arra a következtetésre jutottunk, hogy a fertőzési gyakoriság nem befolyásolja a tünetek megjelenését (DI%). Meg kell említeni azonban, hogy a mintavétel a kordonkARBól történt, így a mélyebb szövetben lévő esetleges kórokozó tanulmányozására munkánk nem terjedt ki. A mintagyűjtés a későbbi vizsgálatok biztosítása miatt történt a növény felső fás szövetéből történt.

Betegség elleni védekezési lehetőségként *Trichoderma* fajokkal végeztünk *in vitro* és *in vivo* vizsgálatokat. Biopeszticidként való alkalmazásukhoz teszteltük az izolátumaink micéliális növekedését eltérő hőmérsékleteken. Megállapítottuk, hogy az izolátumok hazai éghajlati viszonyok között gyors növekedésre képesek. A TR06 (*T. orientale*) minden vizsgált hőmérsékleten szignifikánsan magas a növekedési aktivitással rendelkezett.

Mikoparazita képességük során a *Trichoderma* fajok rátekerednek a parazitált gombák hifáira, majd appresszóriumot fejlesztenek és sejtfalbontó enzimeket termelve elpusztítják a növényi patogének sejtjeit (Kotze et al., 2011). A biokontrollként való alkalmazhatóságuk esetén a kórokozókkal szembeni pusztító hatásukat vizsgáltuk, mely során a *Trichoderma* által elfoglalt terület nagyságának, valamint a *Trichoderma* és a GTD patogén által együttesen elfoglalt terület nagyságának hányadosát határoztuk meg. A BC-Index segítségével becsülhető a biológiai védekezési képesség mértéke (Szekeres et al., 2006; Kovács et al., 2014a; c; d; e; f; 2015a; b; c; d). A saját izolátumaink 100%-os Biokontroll Indexszel rendelkeztek, vagyis elpusztították a GTD patogéneket, illetve a mikroszkópi felvételek alapján az appresszorium képzés is megfigyelhető volt.

A szabadföldi kísérlet során metszési sebeket kezeltünk spórákészítménnyel a Tokaji Borvidék Szőlészeti és Borászati Kutató Intézet ültetvényében. A vizsgálatba egy tünetmentes tőkét is bevontunk, mely a betegségekre jellemző tüneteket nem mutatta. Ezen kívül két, beteg tőke melletti, tünetes kontroll tőkét is megfigyeltünk, melyeket *Trichoderma* szuszpenzióval nem kezeltünk. Három hónappal és egy évvel később is sikerült visszaizolálni a kijuttatott *Trichoderma* sp.-t négy kezelt tőkéről, emellett a betegség jellegzetes tünetei is csökkentek majdnem minden tőkén. Megállapítható, hogy az általunk izolált *Trichoderma* fajok hatékony biológiai védekezési lehetőségnek tekinthetőek, hiszen laboratóriumi körülmények mellett a szabadföldi elő kísérletben is hatékonynak mutatkoztak.

9 SUMMARY

Grapevine trunk diseases are one of the most threatening problem with increasing disease incidence worldwide (Bertsch et al., 2013; Úrbez-Torres et al., 2013). It is a complex disease with unique characteristics of hidden infection among the grapevine diseases. The infection can be hidden without visible disease symptoms for years (Lehoczky, 1974; Cristinzio, 1978; Phillips, 2002; Auger et al., 2004, Marchi et al., 2006, Van Niekerk et al., 2006; Savocchia et al., 2007; Rego et al., 2008), but the factors affecting the disease appearance are still only suspected.

A three year survey was carried on the Tokaj Wine Region in Hungary. Five vineyards with different topology, soil types, varieties and age were studied. The number of 7606 examined plants and 22794 observations provided robust data for the analysis of the biotic and abiotic factors which may affect the disease appearance rate of the GTD. The average infection rate was tested for each vineyard.

The influence of the weather conditions has been reported may affect symptom appearance. Increased disease incidence was proved in case of irrigation (Bertsch et al., 2013) or high amount of precipitation (Lehoczky, 1974; Hewitt és Pearson, 1988a). Bruno et al. (2007); Marchi et al. (2006) and Andolfi et al. (2009) explained that increase with facilitated transport of the fungal toxins responsible for foliar symptoms. Moreover Surico et al. (2006) and Bertsch et al. (2013) reported increased disease appearance when drought weather was followed by rainy period. Different biotic factors, like variety (Maher et al., 2012; Murolo and Romanazzi, 2014), rootstock type (Murolo és Romanazzi, 2014) age of the plant (Mugnai et al., 1999) was also indicated may affect the disease incidence.

There was significant difference in the disease incidence of GTD at the different vineyards. DI was much higher in vineyard 4 (Bakonyi), on both varieties (Furmint and Hárslevelű) 13.78-42.11%, than in vineyard 2 (Dorgó), with 1.88-4.08% DI with similar age, rootstock, training system and variety. Vineyard 1 (Szemere), and 5 (Szarvas), with similar plantation characteristics, rootstock and variety also had much lower disease incidence (0.55-6.17%), than vineyard 4, during all the three examined years. While vineyard 4 (Bakonyi) is terraced, the other examined vineyards with significantly lower disease incidence were planted with rows on the slopes, allowing the rainfall to rapidly drain.

Following the vineyard 4 (Bakonyi), the second highest DI (2.13–6.17%) could be observed in vineyard 5 (Szarvas), with similar soil (cambisols), plantation characteristics, and rootstock (Teleki 5C). There is also a terrace-like horizontal part of the vineyard, where higher disease incidence (5.04-6.15%) was observed, comparing to the upper part (2.13-3.40%), on a 5-8% slope.

Soil type was the other tested abiotic factor for GTD. Vineyard 1-3 was on slope sediment from luvisols soil, while vineyards 4 and 5 on cambisols. DI of the vineyards on cambisols was significantly higher, comparing with the other soil type. Cambisols is considered as a soil with high water capacity (Rhoton and Markewich, 2006). Our previous results have also highlighted, that increased soil water content enhanced the rate of the diseased plants within a vineyard (Kovács et al., 2016).

Regarding the varieties, higher disease incidence was observed on Furmint, than on Hárslevelű at vineyard 4 (Bakonyi) in each year. However Furmint had lower disease incidence in vineyard 1 and 2 (0.8-3.03%), than in vineyard 5 (3.41-5.40%) planted with Hárslevelű variety. Interestingly, the vineyard 3 had the lowest disease incidence (0.17%), among the examined ones. It had unique characteristics regarding variety (Zéta) and rootstock (125AA), comparing to the others. Although it was among the youngest examined plantation (12 years old in 2013), its disease incidence was lower, than vineyard 5 with the same age, and training system.

Although the weather conditions were different at the three vintage, but neither of the differences on weather conditions (temperature and amount of precipitation) resulted differences of the DI in the examined period comparing average DI of the vineyards at the different years. The trends of the DI changes were different in vineyards on slope (1-3 and 5S), however vineyards 4F, 4H, and 5L, with horizontal topology showed an increasing DI between 2013 and 2015. There was significant difference in DI of 5L and 5S (different topology) at 2013, and 2015, while the difference in the GTD symptom expression has disappeared at 2014, when higher amount of precipitation provided higher soil water content during the summer (green berries growth) period on the slopes as well.

Symptom incidence was examined in all vineyards, except one. Majority (329 plants, 62.08%) of the 530 infected plants expressed disease symptoms only one of the three years. The average symptom incidence rate, regarding the individual vineyards (62.42%) was also the highest for the plants expressing symptoms only once. Occasional disease incidence ranged above 50% (55.17-80%) in all vineyards, except the 4H (Bakonyi with

Hárslevelű variety), where stable disease expression occurred at 68%. Interestingly, not this vineyard had the highest DI value.

It was concluded, that soil water content, determined by topology and soil type were the most important abiotic factors for disease incidence (DI) of the GTD symptom appearance expressed by foliar symptoms or dieback. The higher DI may have been resulted by the higher infection rate of the pathogen fungi with increased activity and reproduction rate among humid conditions. However, increasing pathogen activity (growth or toxin production), or facilitated toxin transport may also increase the symptom appearance rate. Among the biotic factors, age of the vineyards had the highest detectable impact for the DI, resulting significantly higher rates of diseased plants in the vineyards with older plants. It also may have caused by several factors, e.g. cumulated infection of the different GTD pathogens, moreover the change of the plant physiology and plant resistance, or the endophytic microbiota. Further studies are necessary to explain the role of the soil water content and grapevine age in the increase of the diseased plants in the vineyards.

The detection rate of the reported GTD pathogen *D. seriata* (Phillips 1998; Taylor et al., 2005; Luque et al., 2009; Úrbez-Torres et al., 2009; Úrbez-Torres, 2011c; Pitt et al., 2013) was high, but highly variable (50-100%) in the vineyards when both symptomatic and asymptomatic plants were included in the test. This isolation rate was similar to the previously reported isolation rate of GTD pathogens, mainly *D. seriata* in other studies from symptomatic ones (Bruez et al., 2014). Therefore it was concluded that infection rate did not affected the symptom appearance expressed as disease incidence rate in this study. It must be mentioned, however that only the upper part was sampled for fungal isolation, therefore GTD pathogens with different habitat remained hidden.

Different, *Trichoderma*, isolated by us from healthy grapevine plants in the Tokaj Wine Region were also test against grapevine trunk pathogens. The *Trichoderma* isolates showed different mycelial growth rates with studied temperature range on agar plates.

Our isolates were capable of rapid growth in Hungarian climatic conditions. The TR06 (*T. orientale*) isolate showed the highest growth rate among all the isolates within the full temperature range.

The *Trichoderma* species are mycoparasites, coiling around the hyphae of the plant pathogens and forming appressorium. The produced chitinase enzyme finally enables the penetration of *Trichoderma*'s hyphae through the cell of the pathogen fungi (Kotze et al., 2011). We determined the Biocontrol-Index based on the size of the *Trichoderma* area

and the *Trichoderma* and the plant pathogen combined area. All *Trichoderma* isolates overgrew the GTD pathogen thus the Biocontrol-Index was established at 100% for all *Trichoderma* isolates (Kovács et al., 2014a; c; d; e; f; 2015a; b; c; d).

Trichoderma spore suspension was tested on preliminary field test, when mixed TR04 and TR05 spore suspension were sprayed on the pruning wounds of canes. One asymptomatic plant, and control symptomatic plant were also included on the test, when pruning wounds were only sprayed with sterile water.

Three months and one year later our *Trichoderma* species could be isolate from four grapevines and the symptoms reduced on almost tested trunks.

It can be concluded that the *Trichoderma* species considered to be an effective biological control possibility because they can be use efficiently in laboratory and field experiments and the use of this fungi help to reduce the amount of the pesticides.

10 IRODALOMJEGYZÉK

1. Abreo, E. – Martinez, S. – Bettuci, L. – Lupo, S.: 2011. *Phaeomoniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium* spp. in grapevines from Uruguay. *Phytopathologia Mediterranea*. 50. 77-85.
2. Abreo, E. – Martinez, S. – Bettucci, L. – Lupo, L.: 2013. Characterization of *Botryosphaeriaceae* species associated with grapevines in Uruguay. *Australasian Plant Pathology*. 42. 241-249.
3. Alfonzo, A. – Conigliaro, G. – Torta, L. – Burruano, S. – Monschetti, G.: 2009. Antagonism of *Bacillus subtilis* strain AG1 against vine wood fungal pathogens. *Phytopathologia Mediterranea*. 48. 155-158.
4. Al-Haq, M. I. – Seo, Y. – Oshita, S – Kawagoe, Y.: 2002: Disinfection effects of electrolyzed oxidizing water on suppressing fruit rot of pear caused by *Botryosphaeria berengeriana*. *Food Research International*. 95. 657-664.
5. Altschul, S. F. – Gish, W. – Miller, W. – Myers, E. W. – Lipman, D. J.: 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*. 215. 403-410.
6. Alves, A. – Phillips, A. J. L. – Henriques, I. – Correia, A.: 2005. Evaluation of amplified ribosomal DNA restriction analysis as a method for the identification of *Botryosphaeria* species. *FEMS Microbiology Letters*. 245. 221-229.
7. Ammad, F. – Benchare, M. – Toumi, M.: 2014. Fungal pathogens associated with grapevine wood lesions in Algeria. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*. 4. 8-15.
8. Amponsah, N. T. – Jones, E. E. – Ridgway, H. J. – Jaspers, M. V.: 2011. Identification, potential inoculum sources and pathogenicity of botryosphaeriaceous species associated with grapevine dieback disease in New Zealand. *European Journal of Plant Pathology*. 131. 467-482.
9. Anco, D. J. – Erincik, O. – Ellis M. A.: 2011. Phomopsis Cane and Leaf Spot of Grape. *Ohio State University Extension*. Fact Sheet: HYG-3031-11.
10. Anderson, H. W. – Colby, A. S.: 1943. Dead arm disease of grape in Illinois. *Plant Disease Report*. 27. 245-246.
11. Andolfi, A. – Cimmino, A. – Evidente, A. – Iannaccone, M. – Capparelli R. – Mugnai, L. – Surico G.: 2009. A new flow cytometry technique to identify *Phaeomoniella chlamydospora* exopolysaccharides and study mechanisms of esca grapevine foliar symptoms. *Plant Disease*. 93. 680-684.

12. Andolfi, A. – Mugnai, L. – Luque, J. – Surico, G. – Cimmino, A. – Evidente, A.: 2011. Phytotoxins produced by fungi associated with grapevine trunk diseases. *Toxins*. 3. 1569-1605.
13. Andreini, L. – Guarino, L. – Viti, R. – Scalabrelli, G.: 2013. Evaluation of the effect of esca disease on bud break in *Vitis vinifera* L.: Possible relationship between cultivars and rootstocks. *Vitis*. 52. 33-40.
14. Aponyi I. – Rábai A. – Mikulás J.: 1999. Early dieback of grapevine stocks in Hungary. *1st International Workshop on Grapevine Trunk Diseases, Abstracts*. 19.
15. Armengol, J. – Vicent, A. – Torné, L. – García-Figueres, F. – García-Jimenez, J.: 2001. Fungi associated with esca and grapevine decline in Spain: a three-year survey. *Phytopathologia Mediterranea*. 40. 325-329.
16. Arnold, A. E. – Maynard, Z. – Gilbert, G. S. – Coley, P. D. – Kursar, T. A.: 2000. Are tropical endophytes hyperdiverse? *Ecology Letters*. 3. 267-274.
17. Aroca, A. – Raposo, R. – Lunello, P.: 2008. A biomarker for the identification of four *Phaeoacremonium* species using the b-tubulin gene as a target sequence. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 80. 1131-1140.
18. Auger J. – Droguett, A. – Esterio, M.: 1999. The Red Globe decline. [In: Proceedings of the 1st International Workshop on Grapevine Trunk Diseases: Esca and grapevine declines.] 1999. Október 1-3., Siena, Olaszország.
19. Auger, J. – Esterio, M. – Ricke, G. – Terez I.: 2004: Black dead arm and basal canker of *Vitis vinifera* cv. Red Globe caused by *Botryosphaeria obtusa* in Chile. *Plant Disease*. 88. 1286.
20. Barnes, E. H.: 1963. Incidence of systemic dead-arm and its relation to topography in Michigan vineyards. *Plant Disease Report*. 47. 872-874.
21. Barr, M. E.: 1987. Prodrum to Class *Loculoascomycetes*. *Amherst, Massachusetts*. 186.
22. Baskarathevan, J. – Jaspers, M. V. – Jones, E. E. – Ridgway, H. J.: 2012. Incidence and distribution of botryosphaeriaceous species in New Zealand vineyards. *European Journal of Plant Pathology*. 132. 549-560.
23. Baumgartner, K. – Fujiyoshi, P. T. – Travadon, R. – Castlebury, L. A. – Rolshausen, P. E.: 2012. Characterization of *Phomopsis* species recovered from wood cankers in eastern North American vineyards. *Phytopathologia Mediterranea*. 51. 420. (absztrakt)

24. Benítez, T. – Rincon, A. M. – Codon, A. C.: 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*. 7. 249-260.
25. Bertsch, C. – Larignon, P. – Farine, S. – Clement, C. – Fontaine, F.: 2009. The spread of grapevine trunk disease. *Science*. 8. 721.
26. Bertsch, C. – Ramírez-Suero, M. – Magnin-Robert, M. – Larignon, P. – Chong, J. – Abou-Mansour, E. – Spagnolo, A. – Clément, C. – Fontaine, F.: 2013. Grapevine trunk diseases: complex and still poorly understood. *Plant Pathology*. 62. 2: 243-265.
27. Billones, R. G. – Ridgway, H. J. – Jones, E. E. – Jaspers, M. V.: 2010. First report of *Neofusicoccum macroclavatum* as a canker pathogen of grapevine in New Zealand. *Plant Disease*. 94. 12: 1504.
28. Billones-Baaijens, R. – Ridgway, H. J. – Jones, E. E. – Cruickshank, R. H. – Jaspers, M. V.: 2013. Prevalence and distribution of *Botryosphaeriaceae* species in New Zealand grapevine nurseries *European Journal of Plant Pathology*. 135. 175-185.
29. Blanchette, R. A.: 1995. Degradation of the lignicellulose complex in wood. *Canadian Journal of Botany*. 73. S999-S1010.
30. Bolay, A. – Moller, W. J.: 1977. *Eutypa armeniacae* Hansf. & Carter, agent d'un grave dépérissement de vignes en production. *Revue suisse de Viticulture Arboriculture, Horticulture*. 9. 241-251.
31. Bonfiglioli, R. – McGregor, S.: 2006. The *Botryosphaeria conundrum* – a New Zealand perspective. *The Australian & New Zealand Grapegrower & Winemaker*. 512. 49-53.
32. Braun, A. J.: 1961. Dead-arm, a disease of grapes. *Farm Research*. 27. 7.
33. Brown, E. A. – Britton, K. O.: 1986. *Botryosphaeria* diseases of apple and peach in the Southeastern United States. *Plant Disease*. 70. 480-484.
34. Bruez, E. – Vallance, J. – Gerbore, J. – Lecomte, P. – Da Costa, J. P. – Guerin-Dubrana, L. – Rey P. 2014. Analyses of the Temporal Dynamics of Fungal Communities Colonizing the Healthy Wood Tissues of Esca Leaf-Symptomatic and Asymptomatic Vines. *Plos One*. 9. 5: 15.
35. Bruno, G. – Sparapano, L.: 2007. Effects of three esca-associated fungi on *Vitis vinifera* L.: IV. Diffusion through the xylem of metabolites produced by two tracheiphilous fungi in the woody tissue of grapevine leads to esca-like symptoms on leaves and berries. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 71. 106-124.
36. Bulit, J. – Bugaret, Y. – Lafon, R.: 1972. L'excoriose de la vigne et ses traitements. *Revue de Zoologie Agricole et de Pathologie Végétale*. 1. 44-54.

37. Cahurel, J. Y.: 2009. Influence of training system on wood diseases. *GiESCO Konferencia, 2009. július 12-15*. Davis, California (<http://www.vignevin.com/>).
38. Calzarano, F. – Di Marco, S.: 2007. Wood discoloration and decay in grapevines with esca proper and their relationship with foliar symptoms. *Phytopathologia Mediterranea*. 46. 96-101.
39. Carbone I. – Kohn L. M.: 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia*. 91. 3: 553-556.
40. Carlucci, A. – Cibelli, F. – Lops, F. – Phillips, A. J. L. – Ciccarone, C. – Raimondo, M. L.: 2015. *Pleurostomophora richardsiae* associated with trunk diseases of grapevines in southern Italy. *Phytopathologia Mediterranea*. 1593-2095.
41. Carter, M. V.: 1957. *Eutypa armeniacae* Hansf. & Carter, sp. nov., an airborne vascular pathogen of *Prunus armeniaca* L. in southern Australia. *Australian Journal of Botany*. 5. 21-35.
42. Carter, M. V.: 1960. Further studies on *Eutypa armeniaceae* Hansf. et Carter. *Australian Journal of Agricultural Research*. 11. 498-504.
43. Carter, M. V. – Moller, W. J.: 1970: Duration of susceptibility of apricot pruning wounds to infection by *Eutypa armeniacae*. *Australian journal of experimental agriculture and animal husbandry*. 11. 915-920.
44. Carter, M. V. – Talbot, P. H. B.: 1974. *Eutypa armeniacae*. *CMI Descriptions of pathogenic fungi and bacteria*. 436. 1-2.
45. Carter, M. V. – Price, T. V.: 1975. Biological control of *Eutypa armeniacae*. III. A comparison of chemical, biological and integrated control. *Australian Journal of Agricultural Research*. 26. 537-543.
46. Carter, M. V.: 1988: *Eutypa dieback* [In: Pearson, R. C. – Goheen, A. C. (szerk.) *Compendium of Grape Diseases*.] *American Phytopathological Society, Press*, St. Paul, USA. 32-34.
47. Carter, M. V.: 1991. The status of *Eutypa lata* as a pathogen. *International Mycological Institute, Phytopathological Paper*. 32.
48. Castillo-Pando, M. – Somers, A. – Green, C. D. – Priest, M. – Sriskanthades, M.: 2001. Fungi associated with dieback of Semillon grapevines in the Hunter Valley of New South Wales. *Australasian Plant Pathology*. 30. 59-63.
49. Chamberlain, G. C. – Willison, R. S. – Townshend, J. L. – de Ronde, J. H.: 1964. Two fungi associated with the dead-arm disease of grape. *Canadian Journal of Botany*. 42. 351-355.

50. Chapuis, L. – Richard, L. – Dubos, B.: 1998. Variation in susceptibility of grapevine pruning wound to infection by *Eutypa lata* in south-western France. *Plant Pathology*. 47. 463-472.
51. Chebil, S. – Fersi, R. – Yacoub, A. – Chenenaoui, S. – Chattaoui, M. – Melki, I. – Zemni, H. – Rhouma, A. – Durante, G. – Zacchi, E. – Mliki, A.: 2012. First report of *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia seriata* and *Neofusicoccum luteum* associated with canker and dieback of grapevines in Tunisia. *Plant Disease*. 98. 3-420.
52. Chen, W. Q. – Morgan, D. P. – Felts, D. – Michailides, T. J.: 2003. Antagonism of *Paenibacillus lentimorbus* to *Botryosphaeria dothidea* and biological control of panicle and shoot blight of pistachio. *Plant Disease*. 87. 359-365.
53. Chiarappa, L.: 1959. Wood decay of grapevine and its relationship with black measles disease *Phytopathology*. 49. 510-519.
54. Chiarappa, L.: 2000. Esca (black measles) of grapevine. An overview. *Phytopathologia Mediterranea*. 39. 11-15.
55. Choueiri, E. – Jreijiri, F. – Chlela, P. – Louvet, G. – Lecomte, P.: 2006. Occurrence of grapevine decline and first report of Black dead arm associated with *Botryosphaeria obtusa* in Lebanon. *Plant Disease*. 90. 115.
56. Cinelli, T. – Mondello, V. – Marchi, G. – Burruano, S. – Alves, A. – Mugnai, L.: 2016. First Report of *Diaporthe eres* associated with cane blight of grapevine (*Vitis vinifera*) in Italy. *Plant Disease*. 100. 2: 532.
57. Claydon, N. – Grove JF – Pople, M.: 1985. Elm bark beetle boring and feeding deterrents from *Phomopsis oblonga*. *Phytochemistry*. 24. 937-943.
58. Coleman, L. C.: 1928. The dead-arm disease of grapes in Ontario. A preliminary study. *Scientific Agriculture*. 8. 281-315.
59. Cooke, M. C.: 1885. New British fungi. *Grevillea*. 13. 89-100.
60. Cooke, M. C.: 1892. Neglected diagnoses. *Grevillea*. 20. 81-87.
61. Correia, K. C. – Câmara, M. P. S. – Barbara, M. A. G. – Sales, R. – Agusti-Briach, C. – Gramaje, D. – Leon, M. – Gracia-Jimenez, J. – Abad-Campos, P. – Armengol, J. – Michereff, S. J.: 2013. Fungal trunk pathogens associated with table grape decline in Northeastern Brazil. *Phytopathologia Mediterranea*. 52. 380-387.
62. Creaser, M. L. – Wicks, T. J.: 2001. Yearly variation in *Eutypa* dieback symptoms and the relationship to grapevine yield. *The Australian and New Zealand Grapegrower and Winemaker*. 452. 50-52.

63. Creaser, M. L. – Wicks, T. J.: 2004. Short-term effects of remedial surgery to restore productivity to *Eutypa lata* infected vines. *Phytopathologia Mediterranea*. 43. 1: 105-107.
64. Cristinzio G.: 1978. Gravi attacchi di *Botryosphaeria obtusa* su vite in provincia di Isernia. *Informatore fitopatologico*. 28. 21-23.
65. Crous, P. W. – Gams, W. – Wingfield, M. J. – van Wyk, P. S.: 1996. *Phaeoacremonium* gen. nov. associated with wilt and decline diseases of woody hosts and human infections. *Mycologia*. 88. 786-796.
66. Crous, P. W. – Palm, M. E.: 1999. Reassessment of the *Botryosphaeria* anamorph genera *Fusicoccum*, *Dothiorella* and *Botryodiplodia*. *Sydowia*. 51. 167-175.
67. Crous, P. W. – Gams, W.: 2000. *Phaeomoniella chlamydospora* gen. et comb. nov., a causal organism of Petri grapevine decline and esca. *Phytopathologia Mediterranea*. 39. 112-118.
68. Crous, P. W. – Slippers, B. – Wingfield, M. J. – Rheeder, J. – Marasas, W. F. O. – Philips, A. J. L. – Alves, A. – Burgess, T. – Barber, P. – Groenewald, J. Z.: 2006. Phylogenetic lineages in the *Botryosphaeriaceae*. *Studies in Mycology*. 55. 235-253.
69. Davison, E. M. – Tay, C. S.: 1983: Twig, branch and upper trunk cankers of *Eucalyptus marginate*. *Plant Disease*. 67. 1285-1287.
70. Decoin, M.: 2001. Grapevine products: news on withdrawals and restrictions. *Phytoma*. 543. 28-33.
71. Denman, S. – Crous, P. W. – Taylor, J. E. – Kang, J. C. – Pascoe, I. – Wingfield, M. J.: 2000. An overview of the taxonomic history of *Botryosphaeria*, and a re-evaluation of its anamorphs based on morphology and ITS rDNA phylogeny. [In: Seifert, K. A. – Gams, W. – Crous, P. W. – Samuels, G. J. (szerk.) *Molecules, morphology and classification: Towards monophyletic genera in the Ascomycetes*.] CBS Press, Koppenhága, Hollandia, *Studies in Mycology*. 45. 129-140.
72. Destrac, I. – Goutouly, J. P. – Laveau, C. – Guérin-Dubrana, G.: 2007: Mieux comprendre les maladies de dépérissement. *Union Girondine des vins de Bordeaux*. 1035. 28-32.
73. Di Marco, S. – Fabio Osti, F. – Cesari, A.: 2004. Experiments on the control of esca by *Trichoderma*. *Phytopathologia Mediterranea*. 43. 108-115.
74. Diaz, G. A. – Elfar, K. – Latorre, B. A.: 2012. First report of *Seimotosporium* botan associated with trunk disease of grapevine (*Vitis vinifera*) in Chile. *Plant Disease*. 96. 1696-1696.

75. Díaz, G. A. – Latorre, B. A.: 2013. Efficacy of paste and liquid fungicide formulations to protect pruning wounds against pathogens associated with grapevine trunk diseases in Chile. *Crop Protection*. 46. 106-112.
76. Dissanayake, A. J. – Liu, M. – Zhang W. – Chen, Z. – Udayanga D. – Chukeatirote, E. – Li, X. – Yan J. – Hyde, K. D.: 2013. Morphological and molecular characterisation of *Diaporthe* species associated with grapevine trunk disease in China. *Persoonia*. 31. 1-41.
77. Du Plessis, S. J.: 1938. The occurrence of the dead-arm disease of vines in South Africa. *Union of South Africa Department of Agriculture and Forestry Sciences Bulletin*. 175. 1-9.
78. Dubos B.: 1987. Mise au point sur les maladies de dépérissement dans le vignoble français. *Le Progrès Agricole et Viticole*. 104. 135-140.
79. Dubos, B.: 1996. Le syndrome de l'Esca. [In: Forum Fitoiatrici, ERSA, Udine (szerk.) Convegno nazionale "Arsenico, Sí-No"] Codroipo, Udine. 1995.12.14. 83-94.
80. Dubos, B.: 2002. L'Eutypiose. [In: Féret (szerk.) Maladies cryptogamiques de la vigne.] Bordeaux, France. 115-126.
81. Dula T.: 2003. Szőlőleromlás, korai tőkeelhalás („grapevine decline”). *Gyakorlati Agrofórum*. 14. 5: 17-25.
82. Dula, T.: 2004. Esca és Petri betegség. *Gyakorlati Agrofórum. Extra* 7. 16. 5: 12-15.
83. Dula B.-né: 2011. Korai szőlőtőke-pusztulástokozó szaporító anyaggal terjedő kórokozó gombák. *Növényvédelem*. 47. 11: 461-463.
84. Dula B.-né: 2012. Kordonkar-elhalást és korai tőkepusztulást okozó betegségek. [In: Kürti A.- Rácz I. (szerk.) Diagnosztikai és szőlővédelmi kézikönyv GYAKORLÓ SZAKEMBEREKNEK.] Budapest. 76-87.
85. Dumot, V.: 2003. Incidence de l'inoculum de proximité et des pratiques culturales sur l'eutypiose, *Journée Technique de la Station Viticole*. BNIC Eds, Cognac. 45-49.
86. Dumot, V.: 2010: Effet de quelques facteurs agronomiques sur les maladies du bois. [In: Larignon, P. (szerk.) Les maladies du bois de la vigne.] *Journées Nationales Scientifiques sur les maladies du bois de la vigne*. Procédure. Villefranche sur Saône, Franciaország. 47-48.
87. Dumot, V. – Snackers, G. – Larignon, P. – Lecomte, P. – Retaud, P. – David, S. – Menard, E. – Lurton, L.: 2012. Effects of cultural practices on grapevine trunk diseases: results of a long-term experiment. 8th *International Workshop Grapevine Trunk Diseases, 2012. június 18-21., Valencia, Spanyolország*

88. Dupont, J – Wassila, L. – Magnin, S. – Larignon, P. – Roquebert, M. F.: 2000. *Phaeoacremonium viticola*, a new species associated with Esca disease of grapevine in France. *Mycologia*. 92. 499-504.
89. Duthie, J. A. – Munkvold, G. P. – Marois, J. J.: 1991. Relationship between age of vineyard and incidence of Eutypa dieback. *Phytopathology*. 81. 1184-1193.
90. Dvořák, M. – Palovčíková, D – Jankovský, L.: 2006. The occurrence of endophytic fungus *Phomopsis oblonga* on elms in the area of southern Bohemia. *Journal of Forest Science*. 52. 531-535.
91. Edwards, J. – Pascoe, I. G.: 2004. Occurrence of *Phaeomoniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium aleophilum* associated with Petri disease and esca in Australian grapevines. *Australasian Plant Pathology*. 33. 273-279.
92. El-Goorani, M. A. – El-Meleigi, M. A.: 1972. Dieback of grapevine by *Botryodiplodia theobromae* Pat. in Egypt. *Phytopathologia Mediterranea*. 11. 210-211.
93. English, H. – Davis, J. R.: 1978. *Eutypa armeniacae* in apricot: pathogenesis and induction of xylem soft rot. *Hilgardia*. 46. 193-204.
94. Erincik, O. – Madden, L. V. – Ferree, D. C. – Ellis, M. A.: 2001. Effect of growth stage on susceptibility of grape berry and rachis tissues to infection by *Phomopsis viticola*. *Plant Disease*. 85. 517-520.
95. Eskalen, A. – Feliciano, J. – Gubler, W. D.: 2007. Susceptibility of grapevine pruning wounds and symptom development in response to infection by *Phaeoacremonium aleophilum* and *Phaeomoniella chlamydospora*. *Plant Disease*. 91. 1100-1104.
96. Essakhi, S. – Mugnai, L. – Crous, P. W. – Groenewald, J. Z. – Surico, G.: 2008. Molecular and phenotypic characterization of novel *Phaeoacremonium* species associated with Petri disease and esca of grapevine. *Persoonia*. 21. 119-134.
97. Evidente, A. – Sparapano, L. – Andolfi, A. – Bruno, G.: 2000. Two naphthalenone pentaketides from liquid cultures of *Phaeoacremonium aleophilum*, a fungus associated with esca of grapevine. *Phytopathologia Mediterranea*. 39. 162-168.
98. Fallot, J. – Deswarte, C. – Dalmayrac, S. – Colrat, C. – Roustan, J-P.: 1997. *Eutypa* dieback of grapevine: isolation of a molecule synthesized by *Eutypa lata* and toxic for grapevine. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences, Paris*. 320. 149-158.
99. Farr, D. F. – Rossman, A. Y.: 2011. Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA, Washington USA. /<http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>

100. Ferreira, J. H. S. – Matthee, F. N. – Thomas, A. C.: 1991. Biological control of *Eutypa lata* on grapevine by an antagonistic strain of *Bacillus subtilis*. *Phytopathology*. 81. 283-287.
101. Filho, O. P. – Ribeiro, I. J. A. – Kuniyuki, H.: 1995. Podridão do tronco da videira (*Vitis vinifera*) causada por *Dothiorella* sp., forma anamorfica de *Botryosphaeria dothidea*. *Summa Phytopathologica*. 21. 40-42.
102. Fischer, M.: 2002: A new wood-decaying basidiomycete species associated with esca of grapevine: *Fomitiporia mediterranea* (Hymenochaetales). *Mycological Progress*. 1. 3: 315-324.
103. Fischer, M. – Kassemeyer, H.: 2003. Review Fungi associated with Esca disease of grapevine in Germany. *Vitis*. 42. 3: 109-116.
104. Fischer, M.: 2006. Biodiversity and geographic distribution of basidiomycetes causing esca-associated white rot in grapevine: a worldwide perspective. *Phytopathologia Mediterranea*. 45. 30-42.
105. Fleurat-Lessard, P. Luini, E. – Berjeaud, J. M. – Roblin, G.: 2010. Diagnosis of grapevine esca disease by immunological detection of *Phaeomoniella chlamydospora*. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 16. 3: 455-463.
106. Fontaine, F. – Pinto, C. – Vallet, J. – Clément, C. – Gomes, A. C. – Spagnolo, A.: 2015. The effects of grapevine trunk diseases (GTDs) on vine physiology. *European Journal of Plant Pathology*. 1-15.
107. Fotre Muller, M. J.: 2006. Maladies du Bois de la Vigne. Observatoire des Maladies du Bois: Bilan 2003-2005. *Avertissements Agricoles Alsace*.
108. Fourie, P. H. – Halleen, F. – Volkmann, A. S.: 2000. Fungi associated with grape wood, root and trunk diseases: A summary of the 1999-2000 results from the diagnostic service at Nietvoorbij. [In: Proceedings of the 2nd International Viticulture and Enology Congress (szerk.)], 2000. November 8-10., Cape Town, Dél-Afrika.
109. Fourie, P. H. – Halleen, F.: 2001. Diagnosis of fungal diseases and their involvement in dieback disease of young vines. *Wynboer*. 149. 19-23.
110. Fries E. M.: 1823. *Systema mycologicum*. 2. 276-620.
111. Fussler, L. – Kobes, N. – Bertrand, F. – Maumy, M. – Grosman, J. – Savary, S.: 2008. A characterization of grapevine trunk diseases in France from data generated by the national grapevine wood diseases survey. *Phytopathology*. 98. 571-579.
112. Galet, P.: 1999. Précis de pathologie viticole. 3^{ème} édition. 81-86.

113. Gimenez-Jaime, A. – Aroca, A. – Raposo, R. – Garcia-Jimenez, J. – Armengol, J.: 2006. Occurrence of fungal pathogens associated with grapevine nurseries and the decline of young vines in Spain. *Journal of Phytopathology*. 154. 10: 598-602.
114. Gomes, R. R. – Glienke, C. – Videira, S. I. R. – Lombard, L. – Groenewald, J. Z. – Crous, P. W.: 2013. *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. *Persoonia*. 1-41.
115. Gramaje, D. – Garcia-Jimenez, J. – Armengol, J.: 2010. Field Evaluation of Grapevine Rootstocks Inoculated with Fungi Associated with Petri Disease and Esca. *American Journal of Enology and Viticulture*. 61. 4: 512-520.
116. Gramaje, D. – Armengol, J.: 2011. Fungal Trunk Pathogens in the Grapevine Propagation Process: Potential Inoculum Sources, Detection, Identification, and Management Strategies. *Plant Disease*. 95. 9: 1040-1055.
117. Gramaje, D. – Matthew, Ayres, R. – Trouillas, F. P. – Sosnowski, M. R.: 2012. Efficacy of fungicides on mycelial growth of diatrypaceous fungi associated with grapevine trunk disease. *Australasian Plant Pathology*. 41. 295-300.
118. Gramaje, D. – Mostert, L. – Groenewald, J. Z. – Crous, P. W.: 2015. *Phaeoacremonium*: From esca disease to phaeohyphomycosis. *Fungal Biology*. 119. 759-783.
119. Graniti, A.: 1960. Il “mal dell’esca” della vite in Puglia. *Italia agricola*. 97. 543-550.
120. Graniti, A. – Surico, G. – Mugnai, L.: 2006. Esca of grapevine: a disease complex or a complex of diseases?. *Phytopathologia Mediterranea*. 39. 16-20.
121. Grasso, S.: 1969. Il “mal dell’esca” della vite (*Phellinus ignarius* Patouillard) in Sicilia. *Tecnica Agricoltura*. (Catania). 21. 204-212.
122. Grasso, S. – Magnano Di San Lio, G.: 1975. Infections of *Cylindrocarpon obtusisporum* on grapevines in Sicily. *Vitis*. 14. 36-39.
123. Grasso, S.: 1984. Infezioni di *Fusarium oxysporum* e di *Cylindrocarpon destructans* associate a una moria di giovani piante di vite in Sicilia. *Informatore Fitopatologico*. 1. 59-63.
124. Grosman, J.: 2005. Bilan phytosanitaire de la vigne en 2005. *Phytoma Défense Végét.* 587. 18-23.
125. Gubler, W. D – Leavitt, G. M.: 1992. Phomopsis cane and leaf spot. [In: Flaherty, D. L. – Christensen, L. P. – Lanini, W. T. – Marois, J. – Phillips, P. A. – Wilson, L. T.

(szerk.) Grape Pest Management. Second Edition.] *University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Publication*. 3343. 85-88.

126. Gubler, W. D. – Rolshausen, P. E. – Trouillase, F. P. – Úrbez, J. R. – Voegel, T.: 2005. Grapevine trunk diseases in California. *RESEARCH UPDATE Practical Winery&Vineyard Journal*. 1-9.

127. Gugino, B. K. – Travis, J. W.: 2003. Suppression of *Cylindrocarpon destructans* utilizing composted soil amendments. *Phytopathology*. 93. S31.

128. Gupta, S. – Dikshit, A. K.: 2010. Biopesticides: An ecofriendly approach for pest control. *Journal of Biopesticides*. 3. 186-188.

129. Haleem, R. A. – Abdullah, S. K. – Jubrael, M. S.: 2013. Occurrence and distribution of fungi associated with grapevine decline in Kurdistan region-Iraq. *Agriculture and Biology Journal of North America*. ISSN Print: 2151-7517., ISSN Online: 2151-7525.

130. Halleen, F. – Crous, P. W. – Petrini, O.: 2003. Fungi associated with healthy grapevine cuttings in nurseries, with special reference to pathogens involved in the decline of young vines. *Australasian Plant Pathology*. 32. 47-52.

131. Halleen, F. – Schroers, H-J. – Groenewald, J. Z. – Crous, P. W.: 2004. Novel species of *Cylindrocarpon* (*Neonectria*) and *Campylocarpon* gen. nov. associated with black foot disease of grapevines (*Vitis* spp.). *Studies in Mycology*. 50. 431-455.

132. Halleen, F. – Fourie, P. H.: 2005. Protection of grapevine pruning wounds against fungal infections. *Phytopathologia Mediterranea*. 44. 117-118.

133. Halleen, F. – Fourie, P. H. – Crous, P. W.: 2006. A review of black foot disease of grapevine *Phytopathologia Mediterranea*. 45. S55-S67.

134. Halleen, F. – Fourie, P. H. – Lombard, P. J.: 2010. Protection of grapevine pruning wounds against *Eutypa lata* by biological and chemical methods. *South African Journal for Enology and Viticulture*. 31. 125-132.

135. Harman, G. E. – Howell, C. R. – Viterbo, A. – Chet, I. – Lorito, M.: 2004. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*. 2. 1: 43-56.

136. Hewitt, W. B.: 1935. Dead-arm disease of grapes in California. *Plant Disease Report*. 19. 309-310.

137. Hesler, L. R.: 1916. Black rot, leaf spot, and canker of pomaceous fruits. *Cornel University Agricultural Bulletin*. 379.

138. Hewitt, W. B.: 1957. Some manifestations of black measles of grapevines. *Phytopathology*. 47. 16. (absztrakt)
139. Hewitt, W. B. – Pearson, R. C.: 1988a. Diplodia Cane Dieback and Bunch Rot. [In: Pearson, R. C. – Goheen, A. C. (szerk.) *Compendium of Grape Diseases*.] *American Phytopathological Society Press*. St. Paul, USA. 25-26.
140. Hewitt, W. B. – Pearson, R. C.: 1988b. Phomopsis Cane and Leaf Spot. [In: Pearson, R. C.-Goheen, A. C. (szerk.) *Compendium of Grape Diseases*.] *The American Phytopathological Society*, St. Paul, USA. 17-18.
141. Higgins, D. G. – Sharp, P. M.: 1988. "CLUSTAL: A package for performing multiple sequence alignment on a microcomputer". *Gene* 73. 1. 237-244.
142. Hiura, M.: 1924. On the Dead Arm of grapes in the vicinity of Sapporo. *Sapporo Agriculture and Forestry School Bulletin*. 67.
143. Hluchy, M. – Zacharda, M. – Lastuvka, Z. – Bagar, M. – Jetmarová, E. – Vanek, G. – Szóke L. – Plísek, B.: 2007. A gyümölcsfák és a szőlő betegségei és kártevői. *Biocont Laboratory Ltd*. 266.
144. Hofstetter, V. – Buyck, B. – Croll, D. – Viret, O. – Couloux, A. – Gindro, K.: 2012. What if esca disease of grapevine were not a fungal disease? *Fungal Diversity*. 54. 51-67.
145. Horváth A. – Schweighardt, L.: 1991. The cause of vine stock decline and experiences of grape rejuvenation in Neszmély. *Növényvédelem*. 27. 83-87. (Abstract in *Review of Plant Pathology*. 71. 435.)
146. Huertas-Nebreda, B. – González, M. F. – Cañas, P. M. I.: 2010. Descripción de los hongos patógenos de madera de vid aislados más frecuentemente en viñas de Castilla-La Mancha. [Description of wood pathogenic fungi most frequently isolated from vineyards of Castilla-La Mancha.] *Enoviticultura*. 4. 4-9.
147. Hunt, J. S. – Gale, D. S. J. – Harvey, I. C.: 2001. Evaluation of *Trichoderma* as bio-control for protection against wood-invading fungi implicated in grapevine trunk diseases. *Phytopathologia Mediterranea*. 40. 485-486.
148. Hyde, K. D – Nilsson, R. H. – Alias, S. A. – Ariyawansa, H. A. – Blair, J. E. – Cai, L. – de Cock, A. W. A. M. – Dissanayake, A. J. – Glockling, S. L. – Goonasekara, I. D. – Gorczak, M. – Hahn, M. – Jayawardena, R. S. – van Kan, J. A. L. – Laurence, M. H. – Levesque, C. A. – Li, X. H. – Liu, J. K. – Maharachchikumbura, S. S. N. – Manamgoda, D. S. – Martin, F. N. – McKenzie, E. H. C. – McTaggart, A. R. – Mortimer, P. E. – Nair, P. V. R. – Pawłowska, J. – Rintoul, T. L. – Shivas, R. G. – Spies, C. F. J. – Summerell, B. A. – Taylor, P. W. J. – Terhem, R. B. – Udayanga, D. – Vaghefi, N. – Walther, G. – Wilk,

- M. – Wrzosek, M. – Xu, J. C. – Yan, J. Y. – Zhou, N.: 2014. One stop shop: backbones trees for important pytopathogenic genera: I. 2014. *Fungal Diversity*. 67. 1: 21-125.
149. Jacobs, K. A. – Rehner, S. A.: 1998. Comparison of cultural and morphological characters and ITS sequences in anamorphs of *Botryosphaeria* and related taxa. *Mycologia*. 90. 601-610.
150. John, S. – Wicks, T. J. – Hunt, J. S. – Lorimer, M. F. – Oakey H. – Scott, E. S.: 2005. Protection of grapevine pruning wounds from infection by *Eutypa lata* using *Trichoderma harzianum* and *Fusarium lateritium*. *Australas Plant Pathology*. 34. 569-575.
151. Johnson, G. I. – Cooke, A. N. – Mead, A. J. – Wells, I. A.: 1991. Stem and rot of mango in Australia: causes and control. *Acta Horticulturae*. 291. 288-295.
152. Johnson, G. I.: 1992. Biology and control of stem end rot pathogens of mango. M.A Dissertation, University of Queensland. Ausztrália.
153. Kaliternam, A. – Milicevic, T.: 2013. First report of *Neofusicoccum parvum* associated with grapevine trunk diseases in Croatia. *Plant Disease*. 97. 1656-1656.
154. Ketskeméty L. – Izsó L. – Könyves Tóth E.: 2011. Bevezetés az IBM SPSS Statistics programrendszerbe. Artéria Stúdió Kft; Budapest. 1-576.
155. KeXiang, G. – XiaoGuang, L. – RunFang, G. – BaoJian, G. – TianBo, Z.: 2002. Mycoparasitism of *Trichoderma* spp. on five plant pathogenic fungi. *Journal of Shandong Agricultural University*. 33. 42.
156. Kotze, C. – Niekerk, J. V. – Mostert, L. – Halleen, F. – Fourie, P.: 2011. Evaluation of biocontrol agents for grapevine pruning wound protection against trunk pathogen infection. *Phytopathology Mediterranea*. 50. S247-S263.
157. Kovács Cs. – Peles F. – Balling P. – Bihari Z. – Sándor E.: 2014a. Szőlőtőkékől izolált *Trichoderma* fajok vizsgálata laboratóriumi és szabadföldi kísérletben. XXXI. Integrált termesztés a kertészeti és szántóföldi kultúrákban konferencia kiadványa. 5-11.
158. Kovács Cs. – Peles F. – Bihari Z. – Sándor E.: 2014b. A szőlő tőkebetegségeiben szerepet játszó gombák a Tokaj-Hegyaljai borvidéken. *Növényvédelem*. 50. 4: 153-159.
159. Kovács Cs. – Peles F. – Xie, H. – Szojka A. – Hajdu G. – Bihari Z. – Sándor E.: 2014c. A fertőző tőkeelhalásban szerepet játszó gombák izolálása és azonosítása hagyományos és molekuláris biológiai módszerekkel a Tokaj-hegyaljai borvidéken. *Agrártudományi Közlemények*. 56. 61-66.
160. Kovács Cs. – Sándor E. – Peles F.: 2014d. Szőlőtőkékől izolált endofita *Trichoderma* izolátumok micéliális növekedése és kompetíciós képessége. [In: Nagy B.

(szerk.) Évfordulók-Trendfordulók, Festetics Imre születésének 250. évfordulója]. *LVI. Georgikon Napok Konferencia közlemény* 180-187.

161. Kovács Cs. – Sándor E. – Peles F.: 2014e. Analysis of mycelial growth rate and mycoparasitic ability of different *Trichoderma* isolates from Grapevine Trunks. *Analele Universității din Oradea, Fascicula: Protecția Mediului*. 13-20.

162. Kovács Cs. – Sándor E. – Balling P. – Bihari Z. – Peles F.: 2014f. Examination of different *Trichoderma* isolates as potential biopesticide in laboratory and field experiments. *Phytopathologia Mediterranea*. 53. 3. 585. (absztrakt)

163. Kovács Cs. – Sándor E. – Balling P. – Bihari Z. – Peles F.: 2015a. Application of *Trichoderma* strains against GTD pathogens. *6th FEMS Congress of European Microbiologists*, Maastricht, Hollandia. 87. (absztrakt)

164. Kovács Cs. – Peles F. – Sándor E.: 2015b. Endophytic fungi isolated from GTD symptomatic grapevines and testing potential biocontrol agents for treatment. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*. 62. Supplement. Budapest, Magyarország. 168-169.

165. Kovács Cs. – Peles F. – Sándor E.: 2015c. Potential biopesticide against GTD pathogens isolated from asymptomatic grapevines. *International Association for the Plant Protection Sciences*, Berlin, Németország. 444. (absztrakt)

166. Kovács Cs. – Balling P. – Peles F. – Sándor E.: 2015d. *Trichoderma* treatments in Hungarian vineyards. "Search for applied solutions to control grapevine trunk diseases" Funded by Jas HENNESSY & Co., Cognac, Franciország. 49. (absztrakt)

167. Kovács Cs. – Csótó A. – Rakonczás N. – Sándor E.: 2016. Mikroklimatikus viszonyok szerepe a szőlő tőkebetegségeinek tünet megjelenésére. *LVIII. Georgikon Napok Konferencia közlemény*. 184-191.

168. Kövics Gy.: 2009. Növénykórtani vademecum. Magyar-angol angol-magyar szakkifejezés szótár. 107. NOFKA, Debrecen. 470.

169. Kubicek, C. P. – Komon-Zelazowska, M. – Sándor E. – Druzhinina, I.: 2007. Facts and challenges in the understanding of the biosynthesis of peptaibols in *Trichoderma*. *Chemistry and Biodiversity*. 4. 1068-1082.

170. Kullnig-Gradinger, C. M. – Szakacs G. – Kubicek, C. P.: 2002. Phylogeny and evolution of the genes *Trichoderma*: a multigene approach. *Mycology Research*. 106. 7: 757-767.

171. Kummuang, N. – Diehl, S. V. – Smith, B. J. – Graves, C. H.: 1996a. Muscadine grape berry rot diseases in Mississippi: Disease epidemiology and crop reduction. *Plant Disease*. 80. 244-247.
172. Kummuang, N. – Smith, B. J. – Diehl, S. V. – Graves, C. H.: 1996b. Muscadine grape berry rot diseases in Mississippi: Disease identification and incidence. *Plant Disease*. 80. 238-243.
173. Kun A. – Kocsis L.: 2014. Efficacy of treatments against *Phaeomoniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium aleophilum* during nursery propagation. *Phytopathologia Mediterranea*. 53. 3. 592. (absztrakt)
174. Kuntzmann, P. – Villaume, S. – Larignon, P. – Bertsch, C.: 2010. Esca, BDA and eutypiosis: foliar symptoms, trunk lesions and fungi observed in diseased vinestocks in two vineyards in Alsace. *Vitis*. 49. 71-76.
175. Kuntzmann, P. – Barbel, B. – Maumy-Bertrand, M. – Bertrand, F.: 2013. Late harvest as factor affecting esca and Botryosphaeria dieback prevalence of vineyards in the Alsace region of France. *Vitis*. 52. 4: 197-204.
176. Kuo, K. C. – Kao, C. W. – Leu, L. S.: 1989. Grape cluster rot caused by *Botryosphaeria ribis*. *Plant Protection Bulletin, Taiwan*. 31. 238-247. (Absztrakt: Review of Plant Pathology. 69. 515.)
177. Lafon, R.: 1921. Modifications à apporter à la taille de la Vigne dans les Charentes, Taille Guyot-Poussard mixte et double, l'Apoplexie, traitement préventif et curatif. *Cited in Reference*. 29.
178. Larignon, P. – Dubos, B.: 1987. Les séquences parasitaires impliquées dans le syndrome de l'esca. *Symposium sur la lutte intégrée en viticulture*. Logrono. 1987. március 3-5.
179. Larignon, P. – Dubos, B.: 1997. Fungi associated with esca disease in grapevine. *European Journal of Plant Pathology*. 103. 147-157.
180. Larignon, P.: 1999. Black foot disease in France. [In: Morton L. (szerk.) Black Goo Occurrence and Symptoms of Grapevine Declines - IAS/ICGTD Proceedings 1998.] International Ampelography Society. Fort Valley, VA, USA. 89-90.
181. Larignon, P. – Fulchic, R. – Cere, L. – Dubos, B.: 2000. Le Black Dead Arm: une maladie à prendre au sérieux. *Union Girondine*. 30-31.
182. Larignon, P. – Dubos, B.: 2001a. The villainy of Black Dead Arm. *Wines Vines*. 82. 86-89.

183. Larignon, P. – Dubos, B.: 2001b. Black dead arm a new disease - not to be confused with esca. *Phytoma*. 538. 26-29.
184. Larignon, P. – Fulchic, R. – Cere, L. – Dubos, B.: 2001c. Observation on black dead arm in French vineyards. *Phytopathologia Mediterranea*. 40. 336-342.
185. Larignon, P.: 2004. Réflexions sur l'esca. *Phytoma - La Défense des Végétaux*. 576. 28-31.
186. Larignon, P.: 2012. Maladies cryptogamiques du bois de la vigne: symptomatologie et agents pathogènes. 44-74. /<http://www.vignevin.com/>
187. Larkin, M. A. – Blackshields, G. – Brown, N. P. – Chenna, R. – McGettigan, P. A. – McWilliam, H. – Valentin, F. – Wallace, I. M. – Wilm, A. – Lopez, R. – Thompson, J. D. – Gibson T. J. – Higgins, D. G.: 2007. ClustalW and ClustalX version 2.0. *Bioinformatics Advance Access*. 2.
188. Latorre, B. A. – Toledo, M. V.: 1984. Occurrence and relative susceptibility of apple cultivars to *Botryosphaeria* canker in Chile. *Plant Disease*. 68. 36-39.
189. Laveau, C. – Letouze, A. – Louvet, G. – Bastien, S. – Guérin-Dubrana, L.: 2009. Differential aggressiveness of fungi implicated in esca and associated diseases of grapevine in France. *Phytopathologia Mediterranea*. 48. 32-46.
190. Lazzizzera, C. – Frisullo, S. – Alves, A. – Phillips, A. J. L.: 2008: Morphology, phylogeny and pathogenicity of *Botryosphaeria* and *Neofusicoccum* species associated with drupe rot of olives in southern Italy. *Plant Pathology*. 57. 948-956.
191. Leavitt, G. M. – Munnecke, D. E.: 1987. The occurrence, distribution, and control of *Botryodiplodia theobromae* on grapes (*Vitis vinifera*) in California. *Phytopathology*. 77. 1690.
192. Leavitt, G. M.: 1990. The occurrence, distribution, effects and control of *Botryodiplodia theobromae* on *Vitis vinifera* in California, Arizona and northern Mexico. *Ph.D. dissertation, University of California, Riverside, CA, USA*.
193. Lecomte, P. – Bailey, D. J.: 2011. Studies on the infestation by *Eutypa lata* of grapevine spring wounds. *Vitis*. 50. 35-41.
194. Lecomte, P. – Laveau, E. – Laterriere, S. G. – Dewasme, C. – Clerjeau, M.: 2003. Optimization of pruning wound protection for the control of *Eutypa* dieback of grapevine in France. *Proceedings of the IOBC WPRS working group 'Integrated Protection and Production in Viticulture'*. Volos, Görögország. 95-96.
195. Lecomte, P. – Darrieutort, G. – Liminana, J. M. – Comont, G. – Muruamndiaraz, A. – Legorburu, F. J. – Choueiri, E. – Jreijiri, F. – Elamil, R. – Fermaud, M.: 2012. New

insights into Esca of grapevine: the development of foliar symptoms and their association with xylem discoloration. *Plant Disease*. 96. 924-934.

196. Lehoczký, J. – Martelli, G. P. – Sárospataki, G.: 1969. Leafroll of grapevine in Hungary. *Acta Phytopathology Academic Scientenarium Hungarica*. 4. 117-124.

197. Lehoczký J.: 1974. Black dead arm disease of grapevine caused by *Botryosphaeria stevensii* infection. *Acta Phytopathologica Academie Scientiarum Hungaricae*. 9. 319-327.

198. Lehoczký J. – Moller, W. J.: 1979. Eutipás rák és tőkeelhalás, a szőlő Magyarországon most felismert súlyos betegsége. *Horticultural Science*. 11. 2: 37-52.

199. Lehoczký J. – Makó Sz.: 1983. The dieback caused by *Stereum hirsutum* in grapevine. *Kertgazdaság*. 15. 53-66.

200. Lehoczký J.: 1988. Black Dead Arm. [In: Pearson, R. C. – Goheen, A. C. (szerk.) *Compendium of Grape Diseases*.] *American Phytopathological Society, Press*, St. Paul, USA. 35.

201. Leng, P. – Zhang, Z. – Pan, G. – Zhao, M.: 2011. Applications and development trends in biopesticides. *African Journal of Biotechnology*. 10. 86: 19864-19873.

202. Letousey, P. – Baillieul, F. – Perrot, G. – Rabenoelina, F. – Boulay, M. – Vaillant-Gaveau, N. – Clément, C. – Fontaine, F.: 2010. Early events prior to visual symptoms in the apoplectic form of grapevine esca disease. *Phytopathology*. 100. 5: 424-31.

203. Li, X. H. – Yan, J. Y. – Kong, F. F. – Qiao, G. H. – Zhang, Z. W. – Wang, Z. Y.: 2010. *Botryosphaeria dothidea* causing canker of grapevine newly reported in China. *Plant Pathology*. 59. 1170.

204. Lima, M. R. M. – Mafalda, L. – Felgueiras-Graça, G. – Rodrigues, J. E. A. – Barros, A. – Gilana, M. – Dias, A. C.: 2010. NMR metabolomics of esca disease-affected *Vitis vinifera* cv. Alvarinho leaves. *Journal of Experimental Botany*. 61. 14: 4033-4042.

205. Luini, E. – Fleurat-Lessard, P. – Rousseau, L. – Roblin, G. – Berjeaud, J. M.: 2010. Inhibitory effects of polypeptides secreted by the grapevine pathogens *Phaeoconiella chlamydospora* and *Phaeoacremonium aleophilum* on plant cell activities. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 74. 403-411.

206. Luque, J. – Martos, S., Aroca, A. – Raposo, R. – Garcia-Figueres, F.: 2009. Symptoms and fungi associated with declining mature grapevine plants in northeast Spain. *Journal of Plant Pathology*. 91. 381-390.

207. Luque, J. – Elena, G. – Garcia-Figueres, F. – Reyes, J. – Barrios, G. – Legorburu, F. J.: 2014. Natural infections of pruning wounds by fungal trunk pathogens in mature

- grapevines in Catalonia (Northeast Spain). *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 20. 134-143.
208. Luttrell, E. S.: 1948: *Botryosphaeria ribis*, perfect stage of the *Macrophoma* causing ripe rot of *Muscadine* grapes. *Phytopathology*. 38. 261-263.
209. Lyubun, Y. V. – Kosterin, P. V. – Zakharova, E. A. – Shcherbakov, A. A. – Fedorov, E. E.: 2002. Arsenic-contaminated soils: phytotoxicity studies with sunflower and sorghum. *Journal of Soils and Sediments*. 2. 143-147.
210. Maas, J. L. – Uecker, F. A.: 1984: *Botryosphaeria dothidea* canker of thornless blackberry. *Plant Disease*. 68. 720-726.
211. Maher, N. – Piot, J. – Bastien, S. – Vallance, J. – Rey, P. – Guerin-Dubrana, L.: 2012. Wood necrosis in Esca-affected vines: types, relationships and possible links with foliar symptom expression. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 46. 15-27.
212. Mahoney, N. – Molyneux, R. J. – Smith, L. R. – Schoch, T. K. – Rolshausen, P. E. – Gubler, W. D.: 2005. Dying-arm disease in grapevines: Diagnosis of infection with *Eutypa lata* by metabolite analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53. 8148-8155.
213. Maluta, D-R. – Larignon, P.: 1991. Pied-noir: mieux vaut prévenir. *Viticulture*. 11. 71-72.
214. Marchi, G. – Peduto, F. – Mugnai, L. – Di Marco, S. – Calzarano, F. – Surico, G.: 2006. Some observations on the relationship of manifest and hidden esca to rainfall. *Phytopathologia Mediterranea*. 45. S117-S126.
215. Martin, M. T. – Cobos, R.: 2007. Identification of fungi associated with grapevine decline in Castilla y Leon (Spain). *Phytopathologia Mediterranea*. 46. 18-25.
216. Martinez, A. T. – Speranza, M. – Ruiz-Dueñas, F. J. – Ferreira, P. – Camarero, S. – Guillén, F. – Martinez, M. J. – Gutiérrez, A. – del Rio, J. C.: 2005. Biodegradation of lignocellulosics: Microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *International Microbiology*. 8. 195-204.
217. Michailides, T. J. – Morgan, D. P.: 1993. Spore release by *Botryosphaeria dothidea* in pistachio orchards and disease control by altering the trajectory angle sprinklers. *Phytopathology*. 83. 145-152.
218. Mikulás J.: 2008. Korai tökeelhalással (Esca) kapcsolatos feladatok szüret környékén. *Agrofórum: a növényvédők és növénytermesztők havilapja*. 19. 10: 42-45.
219. Mikulás J.: 2014. A szőlőtőkék korai tökeelhalása. *Agrofórum*. 8. 74-81.

220. Milholland, R. D.: 1988: Macrophoma rot. [In: Pearson, R. C.-Goheen, A. C. (szerk.) Compendium of Grape Diseases.] The American Phytopathological Society, St. Paul, USA. 24.
221. Millholland, R. D.: 1991. Muscadine grapes: some important diseases and their control. *Plant Disease*. 75. 113-117.
222. Mims, C. W. – Richardson, E. A.: 2005. Ultrastructure of sporodochium and conidium development in the anamorphic fungus *Epicoccum nigrum*. *Canadian Journal of Botany*. 83. 1354-1363.
223. Mohammadi, H. – Banihashemi, Z.: 2007. Grapevine Decline in Fars Province. *Iranian Journal of Plant Pathology*. 43. 294-310.
224. Mohammadi, H. – Banihashemi, Z. – Gramaje, D. – Armengol, J.: 2013. Fungal Pathogens Associated with Grapevine Trunk Diseases in Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 15. 137-150.
225. Moller, W. J. – Carter, M. V.: 1977. Evidence that *Eutypa armeniacae* is the cause of pruning wound cankers and dieback previously attributed to *Phomopsis viticola* in grapevines. *Proceedings of the American Phytopathological Society*. 4. 222.
226. Moller, M. J. – Kasimatis, A. N.: 1978. Dieback of grapevines caused by *Eutypa armeniacae*. *Plant Disease Report*. 62. 254-258.
227. Moller, W. J. – Kasimatis, A. N.: 1980. Protection of grapevine pruning wounds from *Eutypa* dieback. *Plant Disease*. 64. 278-280.
228. Moller, W. J. – Kasimatis, A. N.: 1981. Further evidence that *Eutypa armeniacae* - not *Phomopsis viticola* - incites dead arm symptoms on grape. *Plant Disease*. 65. 429-431.
229. Mondello, V. – Piccolo, S. – Conigliaro, G. – Alfonzo, A. – Torta, L. – Bunuano, S.: 2013. First report of *Neofusicoccum vitifusiforme* and presence of other *Botryosphaeriaceae* species associated with *Botryosphaeria* dieback of grapevine in Sicily (Italy). *Phytopathologia Mediterranea*. 52. 388-396.
230. Moreno-Sanz, P. – Lucchetta, G. – Zanzotto, A. – Loureiro, M. D. – Suarez, B. – Angelini E.: 2013. Fungi associated to grapevine trunk diseases in young plants in Asturias (Northern Spain). *Horticultural Science*. 40. 3: 138-144.
231. Mostert, L. – Crous, P. W. – Kang, J-C. – Phillips, A. J. L.: 2001. Species of *Phomopsis* and a *Libertella* sp. occurring on grapevines with specific reference to South-Africa: morphological, cultural, molecular and pathological characterisation. *Mycologia*. 93. 146-167.

232. Mostert, L. – Groenewald, J. Z. – Summerbell, R. C. – Gams, W. – Crous, P. W.: 2006. Taxonomy and pathology of *Togninia* (Diaporthales) and its *Phaeoacremonium* anamorphs. *Studies in Mycology*. 54. 1-115.
233. Mugnai, L. – Graniti, A. – Surico, G.: 1999. Esca (black measels) and brown wood-streaking: two old and elusive diseases of grapevines. *Plant Disease*. 83. 404-416.
234. Mundy, D. – Manning, M.: 2010. Ecology and management of grapevine trunk diseases in New Zealand?: a review. *New Zealand Plant Protection*. 63. 160-166.
235. Munkvold, G. P. – Marois, J. J.: 1993a. The effects of fungicides on *Eutypa lata* germination, growth, and infection of grapevines. *Plant Disease*. 77. 50-55.
236. Munkvold, G. P. – Marois, J. J.: 1994. Eutypa dieback of sweet cherry and occurrence of *Eutypa lata* perithecia in the central valley of California. *Plant Disease*. 78. 200-207.
237. Munkvold, G. P. – Marois, J. J.: 1995: Factors associated with variation in susceptibility of grapevine pruning wounds to infection by *Eutypa lata*. *Phytopathology*. 85. 249-256.
238. Munkvold, G. P.: 2001. Eutypa dieback of grapevine and apricot. Online. *Plant Health Progress*. /doi:10.1094/PHP-2001-0219-01-DG/
239. Murolo, S. – Romanazzi, G.: 2014. Effect of grapevine cultivar, rootstock and clone on esca disease. *Australian Plant Pathology*. 43. 215-221.
240. Nagamani, A. – Chakravarthy, K. S.: 2009. *Trichoderma*: Taxonomy and Its Role in The Plant Disease Control. Role of Biocontrol Agents for Disease Management in Sustainable Agriculture, *Research India Publications*. New Delhi, India. 146-164.
241. Nicholas, K. B. – Nicholas, H. B. – Deerfield, D. W.: 1997. GeneDoc: Analysis and visualization of genetic variation. *Embnet.News* 4. 14.
242. Paillassa, E. – Dubos, B. – Larignon, P. – Chevrier, J. C.: 1992. L'inoculum infectieux d'*Eutypa lata*. Sa formation, son évolution et sa dispersion: les facteurs qui les influencent. *Phytoma - Défense Végét.* 440. 21-23.
243. Paradela Filho, O. – Ribeiro, I. J. A. – Braga, F.G. – Nogueira, E. M. C. – Pesce, G. – Kuniyuki, H. – Fossa, E. – Rodrigues, N. J. – Feichtenberger, E.: 1993. *Eutypa lata*, the agent of grape decline in Sao Paulo state. *Summa Phytopathologica*. 19. 86-89.
244. Pascoe, I.: 1998. Trunk diseases of grapevines – perspective from a tour of California. *Australian Grapegrower & Winemaker*. 417. 68-71.
245. Patouillard, N. – De Lagerheim, G.: 1892. Champignons de l'équateur (Pugillus II). *Bulletin trimestriel de la Société mycologique de France*. 8. 113-140.

246. Pearson, R. C. – Goheen, C. A.: 1988. Compendium of Grape Diseases. *American Phytopathological Society, Press*, St. Paul, USA. 121.
247. Pennycook, S. R. – Samuels, G. J.: 1985. *Botryosphaeria* and *Fusicoccum* species associated with ripe fruit rot of *Actinidia deliciosa* (kiwifruit) in New Zealand. *Mycotaxon*. 24. 445-458.
248. Péroš, J. P. – Jamaux-Desprésaux, I. – Berger, G. – Gerba, D.: 1999. The potential importance of diversity in *Eutypa lata* and co-colonising fungi in explaining variation in development of grapevine dieback. *Mycological Research*. 103. 1385-1390.
249. Peroš, J. P. – Berger, G. – Jamaux-Despreaux, I.: 2008. Symptoms, wood lesions and fungi associated with esca in organic vineyards in Languedoc-Roussillon (France). *Journal of Phytopathology*. 156. 297-303.
250. Petit, A. N. – Vaillant, N. – Boulay, M. – Clément, C. – Fontaine, F.: 2006. Alteration of Photosynthesis in Grapevines Affected by Esca. *Ecology and Epidemiology, Phytopatology*. 96. 10: 1060-1066.
251. Petri, L.: 1912. Osservazioni sopra le alterazioni del legno della vite in seguito a ferite. *Le Stazioni Sperimentali Agrarie Italiane*. 45. 501-547.
252. Petzoldt, C. H. – Moller, W. J. – Sall, M. A.: 1981: *Eutypa* dieback of grapevine: Seasonal differences in infection and duration of susceptibility of pruning wounds. *Phytopathology*. 71. 540-543.
253. Petzoldt, C. H. – Moller, W. J. – Sall, M. A.: 1982: Grapevines show seasonal differences in susceptibility to *Eutypa*. *California Agriculture, March-April*. 4-5.
254. Petzoldt, C. H. – Sall, M. A. – Moller, W. J.: 1983: Factors determining the relative numbers of ascospores released by *Eutypa armeniacae* in California. *Plant Disease*. 67. 857-860.
255. Phillips, A. J. L.: 1998. *Botryosphaeria dothidea* and other fungi associated with Excoriose and dieback of grapevines in Portugal. *Journal of Phytopathology*. 146. 327-332.
256. Phillips, A. J. L.: 2002. *Botryosphaeria* species associated with diseases of grapevines in Portugal. *Phytopathologia Mediterranea*. 41. 3-18.
257. Phillips, A. J. L. – Rumbos, I. C. – Alves, A. – Correia, A.: 2005. Morphology and phylogeny of *Botryosphaeria dothidea* causing fruit rot of olives. *Mycopathologia*. 159. 433-439.
258. Phillips, A. J. L. – Crous, P. W – Alves, A.: 2007. *Diplodia seriata*, the anamorph of “*Botryosphaeria*” *obtusa*. *Fungal Diversity*. 25. 141-155.

259. Phillips, A. J. L. – Alves, A. – Abdollahzadeh, J. – Slippers, B. – Wingfield, M. J. – Groenewald, J. Z. – Crous, P. W.: 2013. The *Botryosphaeriaceae*: genera and species known from culture. *Studies in Mycology*. 76. 1: 51-167.
260. Pitt, M. W. – Huang, R. – Qiu, Y. – Steel, C. C. – Savocchia, S.: 2008. Distribution and management of fungi associated with *Botryosphaeria* canker. *Australian and New Zealand Grapegrower Winemaker*. 539. 26-30.
261. Pitt, W. M. – Huang, R. – Steel, C. C. – Savocchia, S.: 2010. Identification, distribution and current taxonomy of *Botryosphaeriaceae* species associated with grapevine decline in New South Wales and South Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 16. 258-271.
262. Pitt, W. M. – Sosnowski, M. R. – Huang, R. – Qiu, Y. – Steel, C. C. – Savocchia, S.: 2012. Evaluation of fungicides for the management of *Botryosphaeria* canker of grapevines. *Plant Disease*. 96. 1303-1308.
263. Pitt, W. M. – Huang, R. – Steel, C. C. – Savocchia, S.: 2013. Pathogenicity and epidemiology of *Botryosphaeriaceae* species isolated from grapevines in Australia. *Australasian Plant Pathology*. 42. 573-582.
264. Pscheidt, J. W. – Pearson, R. C.: 1989. Time of infection and control of *Phomopsis* fruit rot of grape. *Plant Disease*. 73. 829-833.
265. Punithalingam E.: 1979. *Phomopsis viticola*. *CMI Descriptions*. 635. Kew, Surrey, England.
266. Pusey, P. L.: 1989. Availability and dispersal of ascospores and conidia of *Botryosphaeria* in peach orchards. *Plant Disease*. 79. 635-639.
267. Qiu, Y. – Steel, C. C. – Ash, G. J. – Savocchia, S.: 2010. Survey of *Botryosphaeriaceae* associated with grapevine decline in the Hunter Valley and Mudgee grape growing regions of New South Wales. *Australasian Plant Pathology*. 40. 1: 1-11.
268. Rábai A. – Morvai Sz. – Ember I. – Fischl G.: 2005. Szőlő-tőkepusztulás Veszprém megyében. *Növényvédelem*. 10. 41: 461-466.
269. Rábai A. – Dula T. – Mugnai, L.: 2008. Distribution of esca disease in Hungary and the pathogens causing the syndrome. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*. 43. 45-54.
270. Radman, L. – Nadazdin, V.: 1981. A contribution to the study of two *Sphaeropsis* species parasites of the bark of grapevine in Herzegovina, Yugoslavia. *Phytopathologia Mediterranea*. 20. 83-84.

271. Ramos, D. E. – Moller, W. J. – English, H.: 1975a: Susceptibility of apricot tree pruning wounds to infection by *Eutypa armeniacae*. *Phytopathology*. 65. 1359-1364.
272. Ramos, D. E. – Moller, W. J. – English, H.: 1975b. Production and dispersal of ascospores of *Eutypa armeniacae* in California. *Phytopathology*. 65. 1364-1371.
273. Ramsdell, D. C.: 1995. Winter air-blast sprayer applications of benomyl for reduction of *Eutypa* dieback disease incidence in a Concord grape vineyard in Michigan. *Plant Disease*. 79. 399-402.
274. Rappaz, F.: 1984. Les espèces sanctionnées du genre *Eutypa* (*Diatrypaeae*, *Ascomycetes*). Etude taxonomique et nomenclaturale. *Mycotaxon*. 20. 567-586.
275. Ravaz, L.: 1898. Sur le folletage. *Revue Viticulture*. 10. 184-186.
276. Rawnsley, B. – Wicks, T. J. – Scott, E. S. – Stummer, B. E.: 2004. *Diaporthe perijuncta* does not cause Phomopsis cane and leaf spot disease of grapevine in Australia. *Plant Disease*. 88. 1005-1010.
277. Rechner, S. A. – Uecker, F. A.: 1994. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer phology and host diversity in the coelomycetes *Phomopsis*. *Canadian Journal of Botany*. 72. 1666-1674.
278. Reddick, D.: 1909. Necrosis of the grapevine. *Cornell University. Bulletin*. 263. 323-342.
279. Reiczigel J. – Harnos A. – Solymosi N.: 2007. Biostatisztika nem statisztikusoknak. Pars Kft. Nagykovácsi, Hungary. 1-455.
280. Rego, M. C.: 1994. Nova e grave micose da videira em Portugal. Agente responsável: *Cylindrocarpon destructans* (Zins.) Scholten. *Publicação do Laboratório de Patologia Vegetal Veríssimo de Almeida*. 67. 1-4.
281. Rego, C. – Oliveira, H. – Carvalho, A. – Phillips, A. J. L.: 2000. Involvement of *Phaeoacremonium* spp. and *Cylindrocarpon destructans* with grapevine decline in Portugal. *Phytopathologia Mediterranea*. 39. 76-79.
282. Rego, C. – Nascimento, T. – Oliveira, H.: 2001. Characterisation of *Cylindrocarpon destructans* isolates from grapevines in Portugal. *Phytopathologia Mediterranea*. 40. S343-S350.
283. Rego, C. – Vaz, A. – Nascimento, T. – Cabral, A. – Oliveira, H.: 2008. Diseases incited *Botryosphaeriaceae* fungi in Portuguese vineyards. 6th International Workshop Grapevine Trunk Diseases. 2008, September 1-3. Firenze, Olaszország.
284. Rhoton, F. E. – Markewich, H. W.: 2006. Encyclopedia of Soil Science. [In: Rattan Lal (szerk.) Loess II.]. Taylor Francis Group, New York. 1037-1600.

285. Ricard, J. L. – Grosclaude, C. – Ale-Agha, N.: 1974. Antagonism between *Eutypa armeniacae* and *Gliocladium roseum*. *Plant Disease Reporter*. 58. 983-984.
286. Ridgway, H. J. – Sleight, B. E. – Stewart, A.: 2002. Molecular evidence for the presence of *Phaeomoniella chlamydospora* in New Zealand nurseries, and its detection in rootstock mothervines using species-specific PCR. *Australasian Plant Pathology*. 31. 267-271.
287. Rittenburg, L. H. – Hendrix, F. F.: 1983. Peach fruit rots caused by *Botryosphaeria* spp. and *Glomerella cingulata*. *Plant Disease*. 67. 449-450.
288. Rolshausen, P. E. – Gubler, W. D.: 2005. Use of boron for the control of *Eutypa* dieback of grapevines. *Plant Disease*. 89. 734-738.
289. Rolshausen, P. E. – Úrbez-Torres, J. R. – Rooney-Latham, S. – Eskalen, A. – Smith, R. J. – Gubler, W. D.: 2010. Evaluation of pruning wound susceptibility and protection against fungi associated with grapevine trunk diseases. *American Journal of Enology and Viticulture*. 61. 113-119.
290. Romanazzi, G. – Murolo, S. – Pizzichini, L. – Nardi, S.: 2009. Esca in young and mature vineyards, and molecular diagnosis of the associated fungi. *European Journal of Plant Pathology*. 125. 2: 277-290.
291. Romero, M. A. – Sanchez, M. E. – Trapero, A.: 2005: First report of *Botryosphaeria ribis* as a branch dieback pathogen of olive trees in Spain. *Plant Disease*. 89. 208.
292. Rotem, J.: 1994. The genus *Alternaria*: Biology, Epidemiology, and Pathogenicity. *American Phytopathological Society Press*. St. Paul, USA. 326.
293. Rovesti, L. – Montermini, A.: 1987. Un deperimento della vite causato da *Sphaeropsis malorum* diffuso in provincia di Reggio Emilia. *Informatore Fitopatologico*. 1. 59-61.
294. Rumbos, I. – Rumbou, A.: 2001. Fungi associated with esca and young grapevine decline in Greece. *Phytopathologia Mediterranea*. 40. S330-S335.
295. Saccardo, P. A.: 1880. Commentarium mycologicum fungos in primis italicos illustrans. *Michelia*. 2. 92-99.
296. Santos, J. M. – Phillips, A. J. L.: 2009. Resolving the complex of *Diaporthe* (*Phomopsis*) species occurring on *Foeniculum vulgare* in Portugal. *Fungal Diversity*. 34. 111-125.
297. Santos, J. M. – Vrandečić, K. – Čosić, J. – Duvnjak, T. – Phillips, A. J. L.: 2011. Resolving the *Diaporthe* species occurring on soybean in Croatia. *Persoonia*. 27. 9-19.

298. Savocchia, S. – Steel, C. C. – Stodartm B. J. – Somers, A.: 2007. Pathogenicity of *Botryosphaeria* species from declining grapevines in sub tropical regions of Eastern Australia. *Vitis*. 46. 27-32.
299. Savory, J. G.: 1954. Breakdown of timber by ascomycetes and fungi Imperfecti. *Annals of Applied Biology*. 41. 336-347.
300. Scheck, H. J. – Vasquez, S. J. – Gubler, W. D.: 1998a. First report of black-foot disease, caused by *Cylindrocarpon obtusisporum*, of grapevine in California. *Plant Disease*. 82. 448.
301. Scheck, H. J. – Vasquez, S. J. – Gubler, W. D.: 1998b. First report of three *Phaeoacremonium* spp. causing young grapevine decline in California. *Plant Disease*. 82. 590. (absztrakt)
302. Schmidt, C. S. – Wolf, G. A. – Lorenz, D.: 1999. Production of extracellular hydrolytic enzymes by the grapevine dieback fungus *Eutypa lata*. *Journal of Plant Disease and Protection*. 106. 1-11.
303. Schoch, C. L. – Seifert, K. A. – Huhndorf, S. – Robert, V. – Spouge, J. L. – Levesque, C. A. – Chen, W. – Fungal Barcoding Consortium.: 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as an universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 109. 6241-6246.
304. Schulz, B. – Boyle, C.: 2005. The endophytic continuum. *Mycological Research*. 109. 661-686.
305. Schweinitz, L. D.: 1832. Synopsis Fungorum in America boreali media degentium. *Transactions of the American Philosophical Society*. 4. 141-316.
306. Sergeeva, V. – Alves, A. – Phillips, A.: 2009. *Neofusicoccum luteum* associated with leaf necrosis and fruit rot of olives in New South Wales, Australia. *Phytopathologia Mediterranea*. 48. 294-298.
307. Sharma, P. – Kumar, V. – Ramesh, R. – Saravanan, K. – Deep, S. – Sharma, M. – Mahesh, S. – Dinesh, S.: 2011. Biocontrol genes from *Trichoderma* species: A review. *African Journal of Biotechnology*. 10. 86: 19898-19907.
308. Shear, C. L. – Stevens, N. E. – Wilcox, M. S.: 1925. *Botryosphaeria* and *Physalospora* in the Eastern United States. *Mycologia*. 17. 98-107.
309. Shoemaker, R. A.: 1964. Conidial states of some *Botryosphaeria* species on *Vitis* and *Quercus*. *Canadian Journal of Botany*. 42. 1297-1301.

310. Slippers, B. – Fourie, G. – Crous, P. W. – Coutinho, T. A. – Wingfield, B. D. – Wingfield, M. J.: 2004. Multiple gene sequences delimit *Botryosphaeria australis* sp. nov. from *B. lutea*. *Mycologia*. 96. 1028-1039.
311. Slippers, B. – Wingfield, M. J.: 2007. *Botryosphaeriaceae* as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. *Fungal Biology Reviews*. 21. 2-3: 90-106.
312. Sosnowski, M. R. – Shtienberg, D. – Creaser, M. L. – Wicks, T. J. – Lardner, R. – Scott, E. S.: 2007. The influence of climate on foliar symptoms of *Eutypa* dieback in grapevines. *Phytopathology*. 97. 1284-1289.
313. Sosnowski, M. – Creaser, M. – Wicks, T. – Lardner, R. – Scott, E.: 2008. Protection of grapevine pruning wounds from infection by *Eutypa lata*. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 14. 134-142.
314. Sosnowski, M. – Loschiavo, A. – Wicks, T. – Scott, E.: 2009. Managing *Eutypa* dieback in grapevines. *Australian & New Zealand Grapegrower and Winemaker*. 545. 13-16.
315. Sosnowski, M. – Loschiavo, A.: 2010. Management of *Eutypa* dieback and *Botryosphaeria* canker in south-western Western Australian vineyards. *SAR 06/01 Final Report to Grape and Wine Research and Development Corporation*. 2010 január.
316. Sosnowski, M. R. – Wicks, T. J. – Scott, E. S.: 2011. Control of *Eutypa* dieback in grapevines using remedial surgery. *Phytopathologia Mediterranea*. 50. S277-S284.
317. Sparapano, L. – Bruno, G. – Graniti, A.: 2000. Effects on plants of metabolites produced in culture by *Phaeoacremonium chlamydosporum*, *P. aleophilum* and *Fomitiporia punctata*. *Phytopathologia Mediterranea*. 39. 169-177.
318. Stevens N. E.: 1933. Two apple black rot fungi in the United States. *Mycologia*. 25. 536-548.
319. Stevens, N. E.: 1936. Two species of *Physalospora* in England. *Mycologia*. 28. 330-336.
320. Surico, G. – Marchi, G. – Braccini, P. – Mugnai, L.: 2000. Epidemiology of esca in some vineyards in Tuscany (Italy). *Phytopathologia Mediterranea*. 39. 190-205.
321. Surico, G. – Mugnai, L. – Marchi, G.: 2006. Older and more recent observations on esca: a critical overview. *Phytopathologia Mediterranea*. 45. 68-86.
322. Sutton, B. C.: 1980. The *Coelomycetes*: Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. *Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England*. 696.

323. Sutton, T. B.: 1981. Production and dispersal of ascospores and conidia by *Physotheca obtusa* and *Botryosphaeria dothidea* in apple orchards. *Phytopathology*. 71. 584-589.
324. Swart, A. E. – C. L. Lennox – Holz, G.: 1995. Infection of table grape bunches by *Alternaria alternata*. *South African Journal of Enology and Viticulture*. 16. 3-6.
325. Sweetingham, M.: 1983. Studies on the nature and pathogenicity of soilborne *Cylindrocarpon* spp. Ph.D. Thesis, University of Tasmania.
326. Szekeres A. – Leitgeb B. – Kredics L. – Manczinger L. – Vágvölgyi Cs.: 2006. A novel, image analysis-based method for the evaluation of in vitro antagonism. *Journal of Microbiological Methods*. 65. 619-622.
327. Tabacchi, R. – Fkyerat, A. – Poliard, C. – Dubin, G. M.: 2000. Phytotoxins from fungi of esca of grapevine. *Phytopathologia Mediterranea*. 39. 156-161.
328. Tamura, K. – Stecher, G. – Peterson, D. – Filipski, A. – Kumar, S.: 2013. MEGA 6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0.
329. Taylor, A. – Hardy, G. E. S. – Wood, P. – Burgess, T.: 2005. Identification and pathogenicity of *Botryosphaeria* species associated with grapevine decline in Western Australia. *Australasian Plant Pathology*. 34. 187-195.
330. Téliz, D. – Valle, P.: 1979. Eutypa dieback in Mexican vineyards. *Plant Disease Report*. 63. 312-314.
331. Tey-Rulh, P. – Philippe, I. – Renaud, J. M. – Tsoupras, G. – De Angelis, P. – Fallot, J. – Tabacchi, R.: 1991. Eutypine, a phytotoxin produced by *Eutypa lata* the causal agent of dying-arm disease of grapevine. *Phytochemistry*. 30. 471-473.
332. Thompson, J. D. – Gibson, T. J. – Plewniak, F. – Jeanmougin, F. – Higgins, D. G.: 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools, *Nucleic Acids Research*. 25. 4876-4882.
333. Thompson, S. M. – Tan, Y. P. – Young, A. J. – Neate, S. M. – Aitken, E. A. – Shivas, R. G.: 2011. Stem cankers on sunflower (*Helianthus annuus*) in Australia reveal a complex of pathogenic *Diaporthe* (*Phomopsis*) species. *Persoonia*. 27. 80-89.
334. Tomaz, I. L. – Rego, M. C. N. F.: 1990. Fungos do complexo responsável pelo declínio das videiras em Portugal. *Vida Rural*. 1493. 12-20.
335. Trese, A. T. – Burton, C. L. – Ramsdell, D. C.: 1980: *Eutypa armeniacae* in Michigan vineyards: ascospore production and survival, host infection, and fungal growth at low temperatures. *Phytopathology*. 70. 788-793.

336. Trese, A. T. – Ramsdell, D. C. – Burton, C. L.: 1982: Effects of winter and spring pruning and postinoculation cold weather on infection of grapevine by *Eutypa armeniacae*. *Phytopathology*. 72. 438-440.
337. Trouillas, F. P. – Pitt, W. M. – Sosnowski, M. R. – Huang, R. – Peduto, F. – Loschiavo, A. – Savocchia, S. – Scott, E. S. – Gubler, W. D.: 2011. Taxonomy and DNA phylogeny of *Diatrypaceae* associated with *Vitis vinifera* and other woody plants in Australia. *Fungal Diversity*. 49. 203-223.
338. Tulasne, L. R. – Tulasne, C.: 1863. *Selecta Fungorum Carpologia. Parisiis, Imperatoris Jussu, In Imperiali Typographeo Excudebatur*. Paris 45. 2. 1-319.
339. Ubrizsy G.: 1965. *Növénykórtan II*. Akadémiai Kiadó, Budapest, Magyarország. 924.
340. Udayanga, D. – Liu, X. – McKenzie, E. H. C. – Chukeatirote, E. – Ali, H. A. – Bahkali, A. H. A. – Hyde, K. D.: 2011. The genus *Phomopsis*: biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens. *Fungal Diversity*. 50. 189-225.
341. Uecker, F. A.: 1988. A world list of *Phomopsis* names with notes on nomenclature, morphology and biology. *Mycologia memoir No.13 J*. Cramer, Berlin.
342. Úrbez-Torres, J. R. – Leavitt, G. M. – Voegel, T. M. – Gubler, W. D.: 2006a. Identification and distribution of *Botryosphaeria* spp. associated with grapevine cankers in California. *Plant Disease*. 90. 12: 1490-1503.
343. Úrbez-Torres, J. R. – Peláez, H. – Santiago, Y. – Martín, C. – Moreno, C. – Gubler, W. D.: 2006b. Occurrence of *Botryosphaeria obtusa*, *B. dothidea*, and *B. parva* associated with grapevine trunk diseases in Castilla y León region, Spain. *Plant Disease*. 90. 835.
344. Úrbez-Torres, J. R. – Gubler, W. D. – Luque, J.: 2007. First report of *Botryosphaeria iberica* and *B. viticola* associated with grapevine decline in California. *Plant Disease*. 91. 77.
345. Úrbez-Torres, J. R. – Leavitt, G. M. – Guerrero, J. C. – Guevara, J. – Gubler, W. D.: 2008. Identification and pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* and *Diplodia seriata*, the causal agents of Bot canker disease of grapevines in Mexico. *Plant Disease*. 92. 519-529.
346. Úrbez-Torres, J. R. – Adams, P. – Kamas, J. – Gubler, W. D.: 2009. Identification, incidence, and pathogenicity of fungal species associated with grapevine dieback in Texas. *American Journal of Enology and Viticulture*. 60. 4: 497-507.

347. Úrbez-Torres, J. R.: 2011a. The status of *Botryosphaeriaceae* species infecting grapevines. *Phytopathologia Mediterranea*. 50. 5-45.
348. Úrbez-Torres, J. R. – Gubler, W. D.: 2011b. Susceptibility of grapevine pruning wounds to infection by *Lasiodiplodia theobromae* and *Neofusicoccum parvum*. *Plant Pathology*. 60. 261-270.
349. Úrbez-Torres, J. R. – Peduto, F. – Striegler, R. K. – Urrea-Romero, K. E. – Rupe, J. C. – Cartwright, R. D. – Gubler, W. D.: 2012. Characterization of fungal pathogens associated with grapevine trunk diseases in Arkansas and Missouri. *Fungal Diversity*. 52. 1: 169-189.
350. Úrbez-Torres, J. R. – Peduto, F. – Smith, R. J. – Gubler, W. D.: 2013.: Phomopsis dieback: A grapevine trunk disease caused by *Phomopsis viticola* in California. *Plant Disease*. 97. 1571-1579.
351. Úrbez-Torres, J. R. – Haag, P. – Bowen, P. A. – et O'Gorman, D. T.: 2014. Grapevine Trunk Diseases in British Columbia: Incidence and characterization of the fungal pathogens associated with esca and Petri diseases of grapevine. *Plant Disease*. 98. 4: 469-482.
352. Vajna L.: 1983. Eutipás ágrákosodás. [In: Vajna L. (szerk.) A gyümölcsfák korai elhalását okozó gombás betegségek.] Budapest, Mezőgazdasági Könyvkiadó. 1-174.
353. Van Alfen, N. C.: 1989. Reassessment of plant wilt toxins. *Annual Review of Phytopathology*. 27. 533-550.
354. Van Niekerk, J. M. – Crous, P. W. – Fourie, P. H. – Groenewald, J. Z. – Halleen, F.: 2003. Botryosphaeria canker and dieback of grapevines. *Proceedings of the 8th International congress of Plant Pathology, 2003. Február 1-2., Christchurch, Új-Zéland*. 339.
355. Van Niekerk, J. M. – Crous, P. W. – Groenewald, J. Z. – Fourie, P. H. – Halleen, F.: 2004. DNA phylogeny, morphology and pathogenicity of *Botryosphaeria* species on grapevines. *Mycologia*. 96. 781-798.
356. Van Niekerk, J. M. – Fourie, P. H. – Halleen, F. – Crous, P. W.: 2006: *Botryosphaeria* spp. as grapevine trunk disease pathogens. *Phytopathologia Mediterranea*. 45. S43-S54.
357. Van Niekerk, J. M. – Bester, W. – Halleen, F. – Crous, W. P. – Fourie, H.: 2011. The distribution and symptomatology of grapevine trunk disease pathogens are influenced by climate. *Phytopathologia Mediterranea*. 50. S98-S111.

358. Van Rensburg, J. C. J. – Lamprecht, S. C. – Groenewald, J. Z. – Castlebury, L. A. – Crous P.W.: 2006. Characterization of *Phomopsis* spp. associated with die-back of rooibos (*Aspalathus linearis*) in South Africa. *Studies in Mycology*. 55. 65-74.
359. Varga Z.: 2009. Vitis fajok és fajták tőkepusztulásának összehasonlító vizsgálata és a védekezési lehetőségei. *PhD dolgozat*. 113.
360. Verma, M. – Brar, S. K. – Tyagi, R. D. – Surampalli, R. Y. – Valéro, J. R.: 2007. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal*. 37. 1-20.
361. Viala, P.: 1926. Recherces sur les maladies de la vigne. Esca. *Annles des Épiphyties*. 12. 5-108.
362. Vinale, F. – Sivasithamparam, K. – Ghisalberti, E. L. – Marra, R. – Woo, S. L. – Lorito, M.: 2008. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biology & Biochemistry*. 40. 1-10.
363. Weber, E. – Trouillas, F. – Gubler, D.: 2007. Double pruning of grapevines: a cultural practice to reduce infections by *Eutypa lata*. *American Journal of Enology and Viticulture*. 58. 61-66.
364. Wehmeyer, L. E.: 1933. The genus *Diaporthe* Nitschke and its segregates. *University of Michigan Study Science Series*. 9. 1: 349.
365. Weindling, R.: 1932. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. *Phytopathology*. 22. 837-845.
366. White, T. J. – Bruns, T. D. – Lee, S. B. – Taylor, J. W.: 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. [In: Innis, M. A. – Gelfand, D. H. – Sninsky, J. J. – White, T. J. (szerk.) *PCR Protocols: a guide to methods and applications*.] *Academic Press*. New York. 315-322.
367. Whiting, E. C. – Khan, A. – Gubler, W. D.: 2001. Effect of Temperature and Water Potential on Survival and Mycelial Growth of *Phaeomoniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium* spp. *Plant Disease*. 85. 2: 195-201.
368. Willison, R. S. – Chamberlain, G. C. – Townsend, J. L. – de Ronde, J. H.: 1965. Epidemiology and control of dead-arm of grapes. *Canadian Journal of Botany*. 43. 901-914.
369. Wollenweber, H. W. – Reinking, O. A.: 1935. Die Fusarien, ihre Beschreibung. Schadwirkung und Bekämpfung. P. Parey, Berlin, Németország. 1-355.

370. Wood, P. M. – Wood, C. E.: 2005: Cane dieback of Dawn Seedless table grapevines (*Vitis vinifera*) in Western Australia caused by *Botryosphaeria rhodina*. *Australasian Plant Pathology*. 34. 393-395.
371. Wunderlich, N. – Ash, G. – Steel, C. – Raman, H. – Savocchia, S.: 2009. Trunk disease pathogens within the *Botryosphaeriaceae* are associated with bunch rot disease in the Hunter Valley. *The Australian & New Zealand Grapegrower & Winemaker*. 548. 35-38.
372. Wunderlich, N. – Ash, G. J., – Steel, C. C. – Raman, H. – Savocchia, S.: 2011. Association of *Botryosphaeriaceae* grapevine trunk disease fungi with the reproductive structures of *Vitis vinifera*. *Vitis*. 50. 89-96.
373. Yan, J. Y. – Li, X. H. – Kong, F. F. – Wang, Z. Y. – Gong, L. Z. – He, H. P.: 2011a. Occurrence of grapevine trunk disease caused by *Botryosphaeria rhodina* in China. *Plant Disease*. 95. 2: 219.
374. Yan, J. Y. – Peng, Y. L. – Xie, Y – Li, X. H. – Yao, S. W. – Tang, M. L. – Wang, Z. Y.: 2011b. First Report of Grapevine Trunk Disease Caused by *Botryosphaeria obtusa* in China. *Plant Disease*. 95. 616.
375. Yan, J. Y. – Xie, Y – Yao, S. W. – Wang, Z. Y. – Li, X. H.: 2013. Characterization of *Botryosphaeria dothidea*, the causal agent of grapevine canker in China. *Australasian Plant Pathology*. 41. 351-357.

11 PUBLIKÁCIÓK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN



DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



Nyilvántartási szám: DEENK/31/2017.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kovács Csilla
Neptun kód: AH9MYG
Doktori Iskola: Kerpely Kálmán Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10040073

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Magyar nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (2)

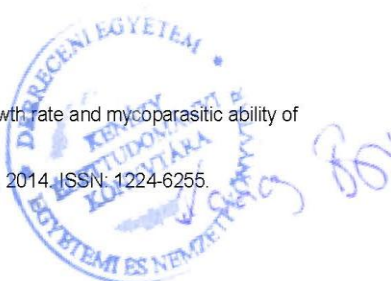
1. **Kovács, C.**, Peles, F., Xie, H., Bérczesné Szojka, A., Hajdu, G., Bihari, Z., Sándor, E.: A szőlő fertőző tökeelhalásban szerepet játszó gombák izolálása és azonosítása hagyományos és molekuláris biológiai módszerekkel a Tokaj-hegyaljai borvidéken.
Agrártud. közl. 56, 61-66, 2014. ISSN: 1587-1282.
2. **Kovács, C.**, Peles, F., Bihari, Z., Sándor, E.: A szőlő tökebetegségeiben szerepet játszó gombák a Tokaj-Hegyaljai borvidéken.
Növényvédelem. 50 (4), 153-159, 2014. ISSN: 0133-0829.

Idegen nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

3. **Kovács, C.**, Sándor, E.: The increasing importance of Grapevine Trunk Diseases.
Int. J. Hortic. Sci. "Accepted by Publisher", [27], 2017. ISSN: 1585-0404.

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (2)

4. **Kovács, C.**, Balling, P., Bihari, Z., Nagy, A., Sándor, E.: Incidence of grapevine trunk diseases is influenced by soil, topology and vineyard age, but not by Diplodia seriata infection rate in the Tokaj Wine Region, Hungary.
Phytoparasitica. Epub, 1-12, 2017. ISSN: 0334-2123.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12600-017-0570-5>
IF: 1.034 (2015)
5. **Kovács, C.**, Sándor, E., Peles, F.: Analysis of mycelial growth rate and mycoparasitic ability of different Trichoderma isolates from grapevine trunks.
Anal. Univ. Oradea Fac. Pretext. Med. 22 (19), 13-20, 2014. ISSN: 1224-6255.





Egyéb folyóiratközlemények (3)

6. Bihari, Z., **Kovács, C.**, Balling, P., Fischinger, R., Éles, S., Peles, F., Sándor, E.: A korai tőkeelhalás kutatása a Tokaji Borvidék Szőlészeti és Borászati Kutatóintézetben.
Szőlő-levél 4 (1), 5-6, 2014.
7. **Kovács, C.**, Peles, F., Sándor, E.: Biológiai védekezési lehetőség a szőlő fás megbetegedései ellen.
Szőlő-levél 4 (2), 13-14, 2014.
8. **Kovács, C.**, Peles, F., Sándor, E.: Tokaj-Hegyaljáról izolált, korai tőkeelhalásban szerepet játszó *Botryosphaeria* gombák.
Szőlő-levél 3 (9), 3-4, 2013.

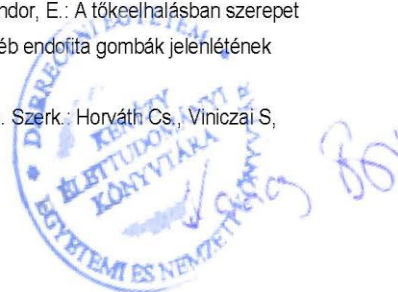
Magyar nyelvű konferencia közlemények (5)

9. **Kovács, C.**, Csótó, A., Rakonczás, N., Sándor, E.: Mikroklimatikus viszonyok szerepe a szőlő tőkebetegségeinek tünet megjelenésére.
In: LVIII. Georgikon Napok, [Pannon Egyetem, Georgikon Kar], [Keszthely], 184-191, 2016.
10. **Kovács, C.**, Peles, F., Balling, P., Bihari, Z., Sándor, E.: GTD tüneteket mutató és tünetmentes szőlőtőkék endofita mikroflórája.
In: Georgikon Napok konferenciakötet [elektronikus dokumentum] : 2015-ös előadások, Pannon Egyetem, [Keszthely], 210-218, 2015. ISBN: 9789639639829
11. **Kovács, C.**, Peles, F., Bihari, Z., Sándor, E.: A fertőző tőkeelhalásban szerepet játszó gombák vizsgálata a Tokaj-Hegyaljai Borvidéken.
In: Az átalakuló, alkalmazkodó mezőgazdaság és vidék : XIV. Nemzetközi Tudományos Napok : Gyöngyös, 2014. március 27-28. : tanulmányok [elektronikus dokumentum]. Szerk.: Takácsné György Katalin, Károly Róbert Főiskola, Gyöngyös, 843-848, 2014. ISBN: 9789639941762
12. **Kovács, C.**, Peles, F., Balling, P., Bihari, Z., Sándor, E.: Szőlőtőkéből izolált *Trichoderma* fajok vizsgálata laboratóriumi és szabadföldi kísérletben.
In: Integrált termesztés a kertészeti és szántóföldi kultúrákban XXXI.. Szerk.: Gál Péter, Novák Róbert, Pánczél Milán, Ripka Géza, Magyar Növényvédelmi Társaság, Budapest, 5-11, 2014. ISBN: 9789638969026
13. **Kovács, C.**, Sándor, E., Peles, F.: Szőlőtőkéből izolált endofita *Trichoderma* izolátumok micéliális növekedése és kompetíciós képessége.
In: Georgikon Napok konferenciakötet [elektronikus dokumentum] : 2014-es előadások, Pannon Egyetem, [Keszthely], 180-187, 2014. ISBN: 9789639639807



Magyar nyelvű absztrakt kiadványok (12)

14. **Kovács, C.**, Csótó, A., Rakonczás, N., Sándor, E.: A szőlő tőkebeteségeinek vizsgálata a Debreceni Egyetem Pallagi Kertészeti Kísérleti Telepének fajtagyűjteményében.
In: 62. Növényvédelmi Tudományos Napok. Szerk.: Horváth József, Haltrich Attila, Molnár János, Magyar Növényvédelmi Társaság, Budapest, 87, 2016
15. **Kovács, C.**, Balling, P., Bihari, Z., Sándor, E.: A szőlő tőkeelhalásában szerepet játszó patogén és endofita gombák jelenléte 2013-2015 között a Tokaji Borvidék szőlőiben.
In: 62. Növényvédelmi Tudományos Napok. Szerk.: Horváth József, Haltrich Attila, Molnár János, Magyar Növényvédelmi Társaság, Budapest, 57, 2016.
16. **Kovács, C.**, Csótó, A., Rakonczás, N., Sándor, E.: Mikroklimatikus viszonyok szerepe a szőlő tőkebeteségeinek tünet megjelenésére.
In: LVIII. Georgikon Napok : Kivonat-kötet : Programfüzet, valamint az elhangzó és poszter előadások rövid kivonatainak gyűjteménye, Pannon Egyetem, Georgikon Kar, Keszthely, 90, 2016. ISBN: 9789639639843
17. **Kovács, C.**: A fertőző tőkeelhalásban szerepet játszó gombák izolálása és azonosítása hagyományos és molekuláris biológiai módszerekkel a Tokaj-hegyaljai borvidéken.
In: XXXII. Országos Tudományos Diákköri Konferencia Agrártudományi Szekció : [Hódmezővásárhely, Szeged, 2015. április 8-10.] : pályaművek összefoglalói : konferencia-kötet / [szerk. Joóné Muhi Piroska, Lehotainé Szabó Andrea], SZTE, [Szeged], 261, 2015. ISBN: 9789633063675
18. Bihari, Z., Balling, P., Éles, S., **Kovács, C.**, Sándor, E.: A szőlő fás betegségeinek hatása a szőlőtermelésre a Tokaji Borvidéken.
In: Szőlészeti és Borászati Tudományos Konferencia. Szerk.: Horváth Cs., Viniczai S, Magyar Mezőgazdaság Kft., Budapest, 25, 2015.
19. **Kovács, C.**, Peles, F., Bihari, Z., Sándor, E.: A szőlő tőkeelhalásában szerepet játszó patogén gombák arányának változása 2013-2014 között a Tokaji borvidéken.
In: 61. Növényvédelmi Tudományos Napok. Szerk.: Horváth József, Haltrich Attila, Molnár János, Magyar Növényvédelmi Társaság, Budapest, 47, 2015.
20. **Kovács, C.**, Balling, P., Peles, F., Éles, S., Bihari, Z., Sándor, E.: A tőkeelhalásban szerepet játszó patogén gombák és a szőlőtőkékben lévő egyéb endofita gombák jelenlétének változása 2013-2014 között a Tokaji borvidéken.
In: Szőlészeti és Borászati Tudományos Konferencia. Szerk.: Horváth Cs., Viniczai S, Magyar Mezőgazdaság Kft., Budapest, 48, 2015.





21. **Kovács, C.**, Peles, F., Balling, P., Bihari, Z., Sándor, E.: GTD tüneteket mutató és tünetmentes szőlőtőkék endofita mikroflórájának összehasonlítása.
In: LVII. Georgikon Napok = 57th Georgikon Scientific Conference : kivonat-kötet : programfüzet, valamint az elhangzó és poszter előadások rövid kivonatainak gyűjteménye : [agrárgazdaság a növekedés után] : [2015. október 1-2., Keszthely], Pannon Egyetem, [Keszthely], 74, 2015. ISBN: 9789639639812
22. **Kovács, C.**, Peles, F., Xie, H., Bihari, Z., Sándor, E.: A fertőző tőkeelhalásban részt vevő kórokozó gombák izolálása a Tokaji borvidékről.
In: 60. Növényvédelmi Tudományos Napok. Szerk.: Horváth József, Haltrich Attila, Molnár János, Magyar Növényvédelmi Társaság, Budapest, 106, 2014.
23. Bihari, Z., **Kovács, C.**, Balling, P., Fischinger, R., Éles, I., Peles, F., Sándor, E.: A korai tőkeelhalás kutatása a Tokaji Borvidék Szőlészeti és Borászati Kutatóintézetben.
In: XV. Szőlészeti és Borászati Konferencia. Szerk.: Zsófi Zsolt, Váczy Kálmán Zoltán, Károly Róbert Főiskola, Eger, 51, 2014. ISBN: 9789639941748
24. **Kovács, C.**, Sándor, E., Peles, F.: Szőlőtőkékől izolált endofita Trichoderma izolátumok micéliális növekedése és kompetíciós képessége.
In: 56. Georgikon Napok : kivonat-kötet : programfüzet, valamint az elhangzó és poszter előadások rövid kivonatainak gyűjteménye, PE Georgikon Kar, [Keszthely], 84, 2014. ISBN: 9789639639591
25. **Kovács, C.**: A fertőző tőkeelhalásban szerepet játszó gombák izolálása és azonosítása hagyományos és molekuláris biológiai módszerekkel a Tokaj-Hegyaljai borvidéken.
In: Kari Tudományos Diákköri Konferencia meghívó és programfüzet / [összeáll. Gyüre Péter], [Debreceni Egyetem Mezőgazdaság- Élelmiszertudományi És Környezetgazdálkodási Kar Tudományos Diákköri Tanácsa], [Debrecen], 24, 2013.

Idegen nyelvű absztrakt kiadványok (16)

26. **Kovács, C.**, Sándor, E.: Grapevine Trunk Diseases Research in Hungary during 2013-2015.
In: Meeting of Young Researchers from V4 Countries Abstract book. Ed.: Monika Wesolowska, University of Rzeszow, Rzeszow, 43, 2016.
27. Tóth, A., Sándor, E., **Kovács, C.**: Isolation and identification of fungi from vine rootstock.
In: The International Conference for Students - Student in Bucovina Abstract book, Stefan cel Mare University of Suceava, Romania, Bucovina, 30, 2016.
28. Csótó, A., **Kovács, C.**, Sándor, E., Rakonczás, N.: Survey and examination of GTD-s and isolation of pathogens in the grapevine variety collection of the University of Debrecen.
In: Meeting of Young Researchers from V4 Countries Abstract book. Ed.: Monika Wesolowska, University of Rzeszow, Rzeszow, 20, 2016.



29. **Kovács, C.**, Sándor, E., Balling, P., Bihari, Z., Peles, F.: Application of Trichoderma strains against GTD pathogens.
In: FEMS Congress of European Microbiologists : Abstract book, [Federation of European Microbiological Societies], [Maastricht], 87, 2015.
30. **Kovács, C.**, Peles, F., Sándor, E.: Different Trichoderma isolates as potential biopesticide in field experiments.
In: Student in Bucovina Abstracts :International Conference for Students "Student in Bucovina" May, 7th-9th, 2015, Faculty of Food Engineering, Stefan cel Mare University of Suceava, Suceava, 153, 2015
31. **Kovács, C.**, Balling, P., Sándor, E., Bihari, Z., Rey, P., Peles, F.: Endophytes and pathogens isolated from symptomatic and asymptomatic (Grapevine Trunk Diseases) woody tissues of Chardonnay, from the Tokaj wine region in Hungary.
In: Cost Action FA 1303 Workshop - "Grapevine trunk diseases: current state and future prospects" : Abstract book, [COST], [Cognac], 14, 2015.
32. **Kovács, C.**, Peles, F., Sándor, E.: Endophytic fungi isolated from GTD symptomatic grapevines and testing potential biocontrol agents for treatment.
Acta Microbiol. Immunol. Hung. 62 (Suppl.), 168-169, 2015. ISSN: 1217-8950.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/030.62.2015.Suppl.2>
33. **Kovács, C.**, Peles, F., Sándor, E.: Potential biopesticide against GTD pathogens isolated from asymptomatic grapevines.
In: XVIII. International Plant Protection Congress Berlin, 24-28 August 2015. Program and Book of Abstracts. Ed.: Falko Feldmann, E. A. Short Heinrichs, [International Association for the Plant Protection Sciences], Berlin, 444, 2015. ISBN: 9783981650877
34. **Kovács, C.**, Peles, F., Bihari, Z., Sándor, E.: Presence of Grapevine Trunk Diseases in 2013 and 2014 in the Tokaj wine region, Hungary.
In: Cost Action FA 1303 Workshop - "Grapevine trunk diseases: current state and future prospects" : Abstract book, [COST], [Cognac], 8, 2015.
35. **Kovács, C.**, Balling, P., Peles, F., Sándor, E.: Trichoderma treatments in Hungarian vineyards.
In: Cost Action FA 1303 Workshop - "Grapevine trunk diseases: current state and future prospects" : Abstract book, [COST], [Cognac], 49, 2015.
36. **Kovács, C.**, Sándor, E., Bihari, Z., Peles, F.: Endophytic and pathogenic fungi associated with Grapevine Trunk Diseases in the Tokaj wine region, Hungary. In: Abstracts of oral and poster presentations given at the 9th International Workshop on Grapevine Trunk Diseases, Adelaide, Australia, 18-20 November 2014.
Phytopathol. Mediterr. 53 (3), 566, 2014. ISSN: 0031-9465



37. **Kovács, C.**, Sándor, E., Balling, P., Bihari, Z., Peles, F.: Examination of different Trichoderma isolates as potential biopesticide in laboratory and field experiments: In: Abstracts of oral and poster presentations given at the 9th International Workshop on Grapevine Trunk Diseases, Adelaide, Australia, 18-20 November 2014.
Phytopathol. Mediterr. 53 (3), 585, 2014. ISSN: 0031-9465.
38. **Kovács, C.**, Bérczesné Szojka, A., Bihari, Z., Sándor, E., Peles, F.: Grapevine trunk diseases in the Tokaj wine region, Hungary.
Integr. Food. Nutr. Metab. 1 (1), 60, 2014. ISSN: 2056-8339.
DOI: <http://dx.doi.org/10.15761/IFNM.1000104>
39. **Kovács, C.**, Sándor, E., Bihari, Z., Peles, F.: Molecular characterization of GTD endophytic and pathogenic fungi.
Biokémia. 38 (3), 74, 2014. ISSN: 0133-8455.
40. **Kovács, C.**, Sándor, E., Peles, F.: Mycelial growth rate and mycoparasitic potential of Trichoderma harzianum isolates against Fusarium oxysporum from grapevine.
Acta Microbiol. Immunol. Hung. 62 (Suppl.), 47-48, 2014. ISSN: 1217-8950.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/030.62.2015.Suppl.1>
41. Sándor, E., Xie, H., **Kovács, C.**, Bérczesné Szojka, A., Bihari, Z., Peles, F.: First taxonomical survey of fungi isolated from Grapevine Trunk Diseases in the Tokaj wine region, Hungary.
Acta Microbiol. Immunol. Hung. 60 (Suppl.), 223-224, 2013. ISSN: 1217-8950.

További közlemények

Idegen nyelvű, hazai könyvrészletek (2)

42. Peles, F., **Kovács, C.**, Kovács, B., Pepó, P., Csajbók, J., Borbélyné Varga, M., Szilágyi, S., Sándor, E.: Effect of different forecrop, fertilizer and plant protection treatment on the mould contamination of wheat.
In: The influence of some technological elements over the wheat and corn grains quality stored in Bihar and Hajdu Bihar counties. Ed.: Csajbók József, Debreceni Egyetem ATC Mezőgazdaságtudományi Kar, Debrecen, 61-66, 2013. ISBN: 9789634736127
43. **Kovács, C.**, Kovács, B., Pepó, P., Csajbók, J., Borbélyné Varga, M., Szilágyi, S., Sándor, E., Peles, F.: Fusarium- and DON toxin contamination of wheat samples from Látókép.
In: The influence of some technological elements over the wheat and corn grains quality stored in Bihar and Hajdu Bihar counties. Ed.: Csajbók József, Debreceni Egyetem ATC Mezőgazdaságtudományi Kar, Debrecen, 37-42, 2013. ISBN: 9789634736127



Magyar nyelvű közlemények hazai folyóiratban (1)

44. **Kovács, C.**, Pepó, P., Csajbók, J., Borbélyné Varga, M., Szilágyi, S., Sándor, E., Peles, F.:
Látóképi kísérletekből származó búzaminták penészgomba-, Fusarium- és DON toxin
szennyezettségének alakulása.
J. Agric. Sci. 50, 76-83, 2012. ISSN: 1916-9752.

Magyar nyelvű absztrakt kiadványok (5)

45. **Kovács, C.**, Sipos, S., Takács, F., Sándor, E.: A meggy tárolását javító pre-, és posztharvest
technológiák vizsgálata.
In: 62. Növényvédelmi Tudományos Napok. Szerk.: Horváth József, Haltrich Attila, Molnár
János, Magyar Növényvédelmi Társaság, Budapest, 88, 2016.
46. **Kovács, C.**, Kovács, B., Pepó, P., Csajbók, J., Sándor, E., Peles, F.: Az elővetemény, a
növényvédelmi kezelések és a tápanyagutánpótlás hatása a búza penészgomba fertőzöttség
kialakulására.
In: Fiatal kutatók az egészséges ételmszerért : tudományos ülés. Szerk.: Bódi Éva, Fekete
István, Kovács Béla, Debreceni Egyetem Hankóczy Jenő Növénytermesztési, Kertészeti és
Élelmiszertudományok Doktori Iskola, Debrecen, 129-134, 2013. ISBN: 9789634736011
47. Lehoczki, A., Sipos, P., Peles, F., **Kovács, C.**, Sándor, E.: Fungicidok kezelése hatása őszi
búza fajták minőségi paramétereire.
In: Fiatal kutatók az egészséges ételmszerért : tudományos ülés. Szerk.: Bódi Éva, Fekete
István, Kovács Béla, Debreceni Egyetem Hankóczy Jenő Növénytermesztési, Kertészeti és
Élelmiszertudományok Doktori Iskola, Debrecen, 202-207, 2013. ISBN: 9789634736011
48. **Kovács, C.**: Látóképi kísérletekből származó búzaminták penészgomba-, Fusarium- és DON
toxin szennyezettségének alakulása.
In: Kari Tudományos Diákköri Konferencia. Kiadta: a Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-
Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar Tudományos Diákköri Tanács,
Debreceni Egyetem Mezőgazdaság- Élelmiszertudományi És Környezetgazdálkodási Kar
Tudományos Diákköri Tanács, Debrecen, 29, 2012.
49. **Kovács, C.**: Juh-, kecske- és tehéntejből készült sajtok kémiai és mikrobiológiai vizsgálata.
In: Tudományos diákköri konferencia, 2011/2012. tanév őszi félév : Debrecen, 2011. október
20. : meghívó és programfüzet, DE MÉKK, [Debrecen], 30, [2011].

Idegen nyelvű absztrakt kiadványok (4)

50. **Kovács, C.**, Sipos, S., Takács, F., Sándor, E.: Changes of quality parameters and decaying
fungal community following modified atmosphere packaging of *Prunus cerasus* fruits.
In: Meeting of Young Researchers from V4 Countries Abstract book. Ed.: Monika
Wesołowska, University of Rzeszow, Rzeszow, 44, 2016.



51. Belovecz, K., Sándor, E., **Kovács, C.**: Identification of pathogenic fungi from rotten walnuts (*Juglans regia*).
In: The International Conference for Students - Student in Bucovina Abstract book, Stefan cel Mare University of Suceava, Romania, Bucovina, 32, 2016.
52. Bujáki, B., Mihály, K., Bérczesné Szojka, A., **Kovács, C.**, Takács, F., Sándor, E.: Preharvest treatments of sour cherries to extend self-life.
In: The International Conference for Students - Student in Bucovina Abstract book, Stefan cel Mare University of Suceava, Romania, Bucovina, 31, 2016.
53. Peles, F., **Kovács, C.**, Bérczesné Szojka, A., Bihari, Z., Sándor, E.: Species identification of wine cellar mould derived from the Tokaj wine region, Hungary.
Acta Microbiol. Immunol. Hung. 62 (Suppl.), 88, 2014. ISSN: 1217-8950.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/030.62.2015.Suppl.1>

Ismeretterjesztő, népszerűsítő cikkek (3)

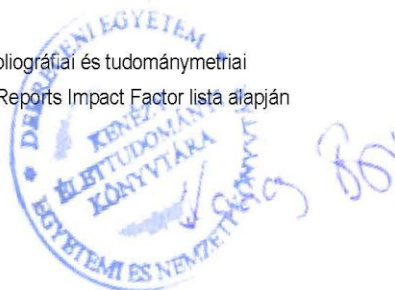
54. Balling, P., **Kovács, C.**: A *Pythium oligandrum* gomba faj alkalmazása szőlőbetegségek ellen.
Szőlő-levél 5 (7), 3-4, 2015.
55. **Kovács, C.**, Peles, F., Sándor, E.: Az *Eutypa lata* által termelt eutypin toxikus vegyület és hatásai, az eutipás tökeelhalás.
Szőlő-levél 4 (5), 7-10, 2014.
56. Peles, F., **Kovács, C.**, Bérczesné Szojka, A., Bihari, Z., Forgony, E., Sándor, E.: Néhány Tokaj környéki pincészetből származó pincepenész azonosítása.
Szőlő-levél 4 (9), 14-17, 2014.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 1,034

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
1,034

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2017.03.07.



12 MELLÉKLETEK

1. melléklet: A DNS kinyerése NucleoSpin® Plant II (MACHEREY-NAGEL) protokoll alapján

NucleoSpin® Plant II (MACHEREY-NAGEL) protokoll

Az izolálás megkezdése, a thermoshakert 65°C-ra kell beállítani

Az elúció előtt a nukleázmentes vizet fel kell melegíteni 70°C-ra

Sejt lízise PL1 pufferrel

- Kerámiagyöngyöket tartalmazó csövekbe 400 µl PL1 puffert mérünk (Roche Magyarország Kft.)
- A minták homogenizálása MagNaLyser készülékben 90 sec 5.000 rpm-en
- A homogenizátumokhoz 10 µl RNase A oldat adása, majd keverés vortexel
- A lizátumokat 10 percig 65°C-on thermoshakerben inkubáljuk

Homogenizátum tisztítása a Nucleospin oszlopon (lila gyűrűvel)

- NucleoSpin oszlopot gyűjtőcsőbe helyezük és a feltárt mintákat felvisszük az oszlopra.
- Centrifugálás 2 percig 11000 x g-n. A tiszta alulúszó összegyűjtése (a NucleoSpin oszlopot nem használjuk tovább - kidobjuk)
- Az alulúszókat tiszta, 450 µl PC puffert tartalmazó Eppendorf csövekbe mérjük majd vortexel összekeverjük

DNS megkötése a Nucleospin szilikamembránon (zöld gyűrűvel)

- NucleoSpin Plant II oszlopot (zöld gyűrűs) új gyűjtőcsőbe helyezük és a mintákat (700 µl) az oszlopra pipetázzuk
- A mintákat 1 percig 11000 x g-n centrifugáljuk, majd eldobjuk az alulúszót, az oszlopot pedig visszatesszük a gyűjtőcsőbe

A szilikamembrán mosása:

- 400 µl PW1 mosó puffert pipetázunk az oszlopra
- Centrifugálás 1 percig 11000 x g-n, majd az alulúszót eldobjuk

A szilikamembrán mosása és szárítása:

1. mosás:

- 700 µl PW2 puffert pipetázunk az oszlopra
 - Centrifugálás 1 percig 11000 x g-n, az alulúszót leöntjük
2. mosás:
- megismételjük az előző lépést 200 µl PW2 pufferrel
 - A szilikamembrán szárítása, hogy a maradék etanol elpárologjon az oszlopról

Nagy tisztaságú DNS eluálása

- Az oszlopot egy új 1.5 ml-es centrifugacsőbe helyezzük
- 50µl 70°C-os nukleáz mentes vizet pipetázunk az oszlopra
- Az oszlopot 5 percig 70°C -on inkubáljuk thermoshakerben
- Centrifugálás 1 percig 11000 x g-n, (DNS eluálása)
- Az utolsó lépés megismételhető újabb 50 µl nukleázmentes vízzel.
- DNS tárolása -20 °C-on.

2. melléklet: A PCR termék tisztítása NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up (Macherey-Nagel) segítségével

- PCR termékhez kétszeres mennyiségű NTI puffert pipetázunk a PCR csőbe (esetünkben 60 µl PCR termékhez 120 µl NTI puffer + PCR termék kiegészítése, ha szükséges)
- A mintákat áthelyezzük szilikamembránnal ellátott oszlopokra. Az oszlopokat gyűjtőcsővekbe helyezzük, centrifugáljuk: 1 min, 11000 g (alulúszót eltávolítjuk)
- 700 µl NT3 puffert pipetázunk az oszlopokra, centrifugáljuk: 1 min, 11000 g (alulúszót eltávolítjuk)
- Megismételjük az előző lépést
- Üresen centrifugáljuk az oszlopokat: 1 min, 11000 g, hogy teljesen eltávolítsuk az NT3 puffert
- Eluálás: Az oszlopokat új 1,5 ml-es Eppendorf csővekbe helyezzük. 20 µl NE puffert pipetázunk az oszlopokra, szobahőmérsékleten inkubáljuk: 1 min, majd centrifugáljuk: 1 min, 11000g (oszlopokat eltávolítjuk)

3. melléklet: Az általunk deponált törzsek ITS nyilvántartási számai (Accession Numbers) a GenBank adatbázisában (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)

KU377167: <i>Diplodia seriata</i> HUT01	KU377211: <i>Alternaria</i> sp HUT48
KU377168: <i>Diplodia seriata</i> HUT03	KU377212: <i>Alternaria</i> sp. HUT49
KU377169: <i>Diplodia seriata</i> HUT04	KU377213: <i>Diplodia seriata</i> HUT50
KU377170: <i>Diplodia seriata</i> HUT05	KU377214: <i>Diplodia seriata</i> HUT51
KU377171: <i>Alternaria</i> sp. HUT06	KU377215: <i>Diplodia seriata</i> HUT52
KU377172: <i>Diplodia seriata</i> HUT07	KU377216: <i>Diplodia seriata</i> HUT53
KU377173: <i>Diplodia seriata</i> HUT08	KU377217: <i>Diplodia seriata</i> HUT54
KU377174: <i>Diplodia seriata</i> HUT09	KU377218: <i>Alternaria</i> sp. HUT55
KU377175: <i>Diplodia seriata</i> HUT10	KU377219: <i>Diplodia seriata</i> HUT56
KU377176: <i>Diplodia seriata</i> HUT11	KU377220: <i>Diplodia seriata</i> HUT57
KU377177: <i>Diplodia seriata</i> HUT12	KU377221: <i>Mucor ramosissimus</i> HUT58
KU377178: <i>Diplodia seriata</i> HUT13	KU377222: <i>Fusarium graminearum</i> HUT59
KU377179: <i>Diplodia seriata</i> HUT14	KU377223: <i>Diplodia seriata</i> HUT61
KU377180: <i>Diplodia seriata</i> HUT15	KU377224: <i>Diplodia seriata</i> HUT62
KU377181: <i>Diplodia seriata</i> HUT16	KU377225: <i>Diplodia seriata</i> HUT63
KU377182: <i>Diplodia seriata</i> HUT17	KU377226: <i>Diplodia seriata</i> HUT64
KU377183: <i>Diplodia seriata</i> HUT18	KU377227: <i>Phoma</i> sp. HUT65
KU377184: <i>Diplodia seriata</i> HUT19	KU377228: <i>Alternaria</i> sp. HUT66
KU377185: <i>Diplodia seriata</i> HUT20	KU377229: <i>Alternaria</i> sp. HUT67
KU377186: <i>Diplodia seriata</i> HUT21	KU377230: <i>Diaporthe</i> sp. HUT68
KU377187: <i>Diplodia seriata</i> HUT22	KU377231: <i>Diplodia mutila</i> HUT69
KU377188: <i>Alternaria</i> sp. HUT23	KU377232: <i>Diplodia mutila</i> HUT70
KU377189: <i>Alternaria</i> sp. HUT24	KU377233: <i>Diplodia seriata</i> HUT71
KU377190: <i>Diplodia seriata</i> HUT25	KU377234: <i>Diplodia seriata</i> HUT72
KU377191: <i>Diplodia seriata</i> HUT27	KU377235: <i>Alternaria</i> sp. HUT73
KU377192: <i>Diplodia seriata</i> HUT28	KU377236: <i>Alternaria</i> sp. HUT74
KU377193: <i>Alternaria</i> sp. HUT29	KU377237: <i>Alternaria</i> sp. HUT75
KU377194: <i>Diplodia seriata</i> HUT30	KU377238: <i>Diplodia seriata</i> HUT76
KU377195: <i>Diplodia seriata</i> HUT31	KU377239: <i>Epicoccum nigrum</i> HUT77
KU377196: <i>Diplodia seriata</i> HUT32	KU377240: <i>Diplodia seriata</i> HUT78
KU377197: <i>Diplodia seriata</i> HUT33	KU377241: <i>Diplodia seriata</i> HUT79
KU377198: <i>Diplodia seriata</i> HUT34	KU377242: <i>Diplodia mutila</i> HUT80
KU377199: <i>Diplodia seriata</i> HUT35	KU377243: <i>Diplodia seriata</i> HUT81
KU377200: <i>Diplodia seriata</i> HUT36	KU377244: <i>Diplodia seriata</i> HUT82
KU377201: <i>Diplodia seriata</i> HUT37	KU377245: <i>Diplodia mutila</i> HUT83
KU377202: <i>Alternaria</i> sp. HUT38	KU377246: <i>Diplodia seriata</i> HUT84
KU377203: <i>Diplodia seriata</i> HUT39	KU377247: <i>Diplodia seriata</i> HUT85
KU377204: <i>Diplodia seriata</i> HUT40	KU377248: <i>Diplodia seriata</i> HUT86
KU377205: <i>Alternaria</i> sp. HUT41	KU377249: <i>Diplodia seriata</i> HUT87
KU377206: <i>Diplodia seriata</i> HUT43	KU377250: <i>Diplodia mutila</i> HUT88
KU377207: <i>Diplodia seriata</i> HUT44	KU377251: <i>Diplodia seriata</i> HUT89
KU377208: <i>Diplodia seriata</i> HUT45	KU377252: <i>Diplodia seriata</i> HUT90
KU377209: <i>Botryosphaeria</i> sp. HUT46	KU377253: <i>Diplodia seriata</i> HUT91
KU377210: <i>Alternaria</i> sp. HUT47	

KU377254: *Diplodia seriata* HUT92
KU377255: *Mucor ramosissimus* HUT93
KU377256: *Mucor ramosissimus* HUT94
KU377257: *Mucor ramosissimus* HUT95
KU377258: *Mucor ramosissimus* HUT96
KU377259: *Mucor ramosissimus* HUT97
KU377260: *Mucor ramosissimus* HUT99
KU377261: *Mucor ramosissimus* HUT100
KU377262: *Diplodia seriata* HUT101
KU377263: *Diplodia mutila* HUT102
KU377264: *Diplodia seriata* HUT103
KU377265: *Peniophora* sp. HUT104
KU377266: *Diplodia seriata* HUT105
KU377267: *Diaporthe* sp. HUT106
KU377268: *Diplodia seriata* HUT107
KU377269: *Diplodia seriata* HUT108
KU377270: *Alternaria* sp. HUT109
KU377271: *Alternaria* sp. HUT110
KU377272: *Alternaria* sp. HUT111
KU377273: *Bionectria* sp. HUT112
KU377274: *Diplodia seriata* HUT113
KU377275: *Mucor* sp. HUT114
KU377276: *Fusarium graminearum* HUT127
KU377277: *Clonostachys rosea* HUT131
KU377278: *Diaporthe nobilis* HUT159
KU377279: *Clonostachys rosea* HUT219
KU377280: *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex HUT249
KU377281: *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex HUT253
KU377282: *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex HUT254
KU377283: *Diaporthe eres* HUTA255
KU377284: *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex HUT260
KU377285: *Diaporthe nobilis* HUT261
KU377286: *Diaporthe eres* HUTA286
KU377287: *Fusarium armeniacum* HUT325
KU377288: *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex HUT353
KU377289: *Fusarium tricinctum* species complex HUT354
KU377290: *Diaporthe eres* HUT385

4. melléklet: Az izolált endofita fajok gyakorisága az összes vizsgált területen 2013 és 2015 között

Dűlő	Beérkező minta-szám (n)	Endofiták kimutatási gyakorisága (%)										
		<i>Alternaria</i> sp.	<i>Aureobasidium</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Bionectria</i> sp.	<i>Epicoccum</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Mucor</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Peniophora</i> sp.	<i>Phoma</i> sp.	<i>Trichoderma</i> sp.
2013												
Szemere (1)	4	25,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Dorgó (2)	68	2,94	0,00	19,12	0,00	2,94	16,18	5,88	0,00	0,00	0,00	0,00
Várhegy (3)	2	0,00	0,00	50,00	0,00	0,00	50,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Bakonyi (4R)	83	6,10	0,00	0,00	1,20	1,22	1,22	8,54	0,00	1,22	1,22	2,44
Bakonyi (4L)	31	19,35	0,00	0	3,23	6,45	9,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Szarvas (5S)	33	36,36	0,00	3,03	0,00	3,03	18,18	18,18	3,03	0,00	0,00	3,03
Szarvas (5L)	35	40,00	0,00	0,00	0,00	0,00	22,86	20,00	0,00	0,00	0,00	2,86
2014												
Szemere (1)	12	16,67	0,00	0,00	0,00	8,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Dorgó (2)	20	10,00	0,00	0,00	0,00	5,00	5,00	30,00	0,00	0,00	0,00	15,00
Várhegy (3)	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	50,00	0,00	0,00	0,00	50,00
Bakonyi (4R)	152	3,95	0,00	0,00	0,00	2,63	23,68	17,76	0,00	0,00	0,00	9,87
Bakonyi (4L)	21	14,29	0,00	0,00	0,00	0,00	4,76	9,52	0,00	0,00	0,00	4,76
Szarvas (5S)	29	17,24	0,00	0,00	0,00	0,00	20,69	17,24	0,00	0,00	0,00	10,34
Szarvas (5L)	32	6,25	0,00	0,00	0,00	3,13	6,25	9,38	0,00	0,00	0,00	15,63
2015												
Szemere (1)	16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Dorgó (2)	11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	18,18	18,18	0,00	0,00	0,00	0,00
Várhegy (3)	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Bakonyi (4R)	204	7,35	1,93	0,49	0,00	2,94	6,86	3,92	1,47	0,00	0,00	2,94
Bakonyi (4L)	34	5,88	0,00	0,00	0,00	0,00	5,56	100,00	0,00	0,00	0,00	2,94
Szarvas (5S)	28	7,14	0,00	0,00	0,00	7,17	10,71	14,29	0,00	0,00	0,00	0,00
Szarvas (5L)	11	18,18	0,00	0,00	0,00	9,09	0,00	9,09	0,00	0,00	0,00	0,00
Összesen												
Szemere (1)	32	41,67	0,00	0,00	0,00	8,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Dorgó (2)	99	12,94	0,00	19,12	0,00	7,94	39,36	54,06	0,00	0,00	0,00	15,00
Várhegy (3)	4	0,00	0,00	50,00	0,00	0,00	50,00	50,00	0,00	0,00	0,00	50,00
Bakonyi (4R)	439	17,40	1,93	0,49	1,20	6,79	31,76	30,22	1,47	1,22	1,22	15,25
Bakonyi (4L)	86	39,52	0,00	0,00	3,23	6,45	20,00	109,52	0,00	0,00	0,00	7,70
Szarvas (5S)	90	60,74	0,00	3,03	0,00	10,20	49,58	49,71	3,03	0,00	0,00	13,37
Szarvas (5L)	78	64,43	0,00	0,00	0,00	12,22	29,11	38,47	0,00	0,00	0,00	18,49

13 NYILATKOZATOK

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Kerpely Kálmán Növénytermesztési és Kertészeti Tudományok Doktori Iskola keretében készítettem, a Debreceni Egyetem doktori (Ph.D.) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 20.....

.....

Kovács Csilla

Tanúsítom, hogy Kovács Csilla doktorjelölt 2014-2017 között a fent megnevezett Doktori Iskola keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult, az értekezés a jelölt önálló munkája. Az értekezés elfogadását javaslom.

Debrecen, 20.....

.....

Dr. Karaffa Erzsébet Mónika

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Szeretném köszönetemet kifejezni témavezetőmnek Dr. Karaffa Erzsébet Mónika, egyetemi docensnek, aki szakmai és emberi támogatást nyújtott, építő jellegű kritikákat fogalmazott meg az elmúlt években számomra, ezzel segítve munkámat. Dr. Nagy Antal, adjunktusnak is külön köszönöm az eredményeim statisztikai elemzésében nyújtott segítségét.

Külön köszönetet szeretnék mondani a Tokaji Borvidék Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet valamennyi munkatársának, akik segítettek a vizsgálataimhoz szükséges minták begyűjtésében és hasznos tanácsokkal láttak el.

Továbbá szeretném megköszönni páromnak és családomnak a támogatást, hogy mellettem álltak a Ph.D. tanulmányaim alatt.