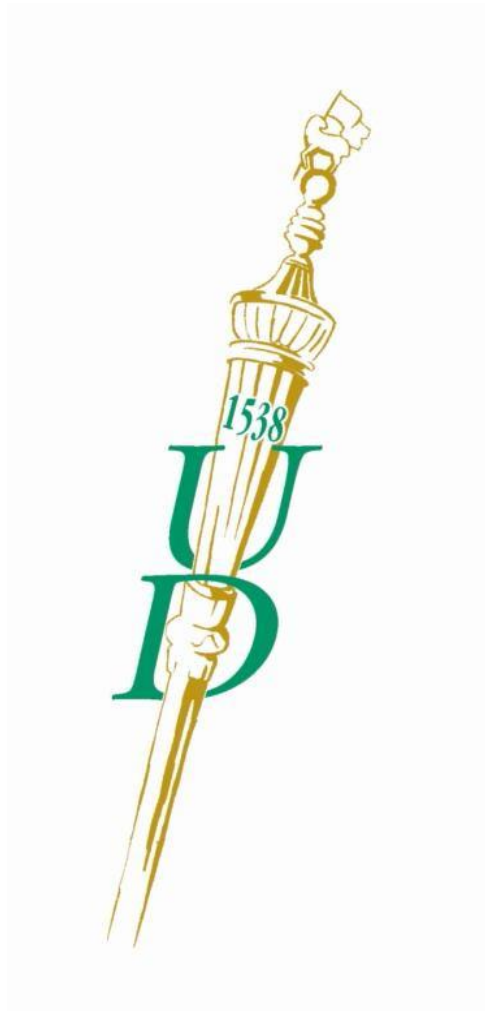


Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

***Monilinia* gombafajok genetikai variabilitásának,
járványbiológiájának, az ellenük való védekezési lehetőségeinek és
fungicid-rezisztencia vizsgálatának egyes aspektusai**

Fazekas Mónika Éva

Témavezető: Prof. Dr. Holb Imre, az MTA doktora



DEBRECENI EGYETEM

Kerpely Kálmán Növénytermesztési, Kertészeti és Regionális Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2014

1. BEVEZETÉS ÉS A KUTATÓMUNKA CÉLKITŰZÉSEI

1.1. A téma jelentősége

A gyümölcsfákat megbetegítő növénykórokozó gombák jelentős gazdasági károkat idéznek elő évről-évre a Föld valamennyi gyümölcsstermő körzetében. Ezek közül világviszonylatban is meghatározóak az almatermésű és csonthéjas gyümölcsök megbetegedését előidéző *Monilinia* fajok, melyek egyes fajai hazánkban is rendszeres járványokat idéznek elő gyümölcsfákon. Ezek közül négy faj meghatározó: a *Monilinia fructigena*, a *M. laxa*, a *M. fructicola* és a *Monilia polystroma*. Európában az első két faj idéz elő jelentős károkat az ágelhalástól a gyümölcsrothadásig többféle tünetegyüttes kiváltásával. Csapadékos időszakban a gombák komoly termés kiesést eredményeznek a hazai gyümölcsösökben. A betegség elleni védekezés összetett, integrált módszerek alkalmazása mellett lehet sikeres különösen csapadékos évjáratokban. A védekezés összetettsége döntően a gyors járványkialakulásra, a fajok genetikai jellemzőire és a fungicidekkel szembeni ellenállóképességre vezethető vissza. Mindhárom területen számos előzetes eredmény ismert a hazai és a nemzetközi szakirodalomban, azonban újabb genetikai diverzitás, járvány- és védekezéstan vizsgálatok eredményei nélkülözhetetlenek ahhoz, hogy a rendszeresen fellépő monília járványokat megfékezhesük és sikeres védekezési stratégiákat fejleszthessünk ki a betegség ellen. Ezen általános alapelv alapján emeltünk ki néhány fontosabb elemet, amelyek a kutatómunka célkitűzései lettek.

1.2. Célkitűzések

- Fertőzött növényi részekről országos hatáskörben gyűjtött *Monilinia* spp. izolátumok azonosítása, faji besorolása klasszikus, illetve molekuláris biológiai módszerek segítségével. A begyűjtött izolátumok közötti genetikai diverzitás kimutatása és esetleges genotípusok elkülönítése és meghatározása.
- *M. fructigena* által okozott járványok időbeni vizsgálata és a járványok elemzése integrált és ökológiai almaültetvényekben.
- Előrejelző és védekezési stratégiák kidolgozása és szabadföldi vizsgálata *M. fructigena* ellen ökológiai almaültetvényekben.
- Csökkentett permetezésszámú programok hatékonyságának vizsgálata három gombabetegség okozta károk – köztük a *M. fructigena* okozta gyümölcsrothadás – mértékére integrált és ökológiai almaültetvényben.
- A *M. laxa* faj egyes izolátumainak különböző hatásmechanizmusú fungicidekkel szembeni érzékenység-vizsgálata.

2. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

2.1. *Monilinia* izolátumok származási helye, izolálása és azonosítása

2.1.1. A vizsgálati minták gyűjtése, kórokozók izolálása és tenyészetek fenntartása

A vizsgálatokhoz a *Monilinia* fajok által jellemző tüneteket mutató fertőzött gyümölcsöket gyűjtöttünk be az ország különböző helységeiből 2009, 2010 és 2012 években. A fajok molekuláris azonosításához referencia *M. laxa*, *M. fructigena* és *M. fructicola* törzseket használtunk fel. A fertőzött gyümölcsöket egyenként gyűjtöttük feliratozott papírzacskókba és a vizsgálatokig hűtőszekrényben, 4 °C-on tároltuk. A begyűjtött gyümölcsökről konídiumokat és/vagy micéliumot Petri-csészén steril PDA táptalajon inkubáltuk 22 °C-on, sötétben. Tiszta tenyészeteket készítettünk, ferde agarra oltottuk és paraffin olajban 4 °C-on tároltuk. Micéliummal átszótt táptalajdarabokat -20°C-on is tároltuk 10%-os glicerolban.

2.1.2. A morfológiai és tenyészbélyegek megállapítása

A fertőzött gyümölcsökön az exogén sztrómák színe és morfológiája alapján azonosítottuk a fajokat. Majd PDA táptalajon a telep morfológiája (színe, mintázottsága, alakja és szegélye, nagysága, illetve a szaporítóképletei) alapján is azonosítottuk a fajokat Van Leeuwen és munkatársai (2002) módszertani leírása alapján. A *Monilinia* fajokat a klasszikus visszafertőzési módszerrel is azonosítottuk: Koch-féle posztulátum alapján almagyümölcsöket fertőztünk vissza, hifával benőtt táptalaj darabot helyeztünk az almagyümölcsön ejtett sebbe, majd egy hetes 22 °C-on történő inkubálást követően a tünetek jellemzői alapján azonosítottuk a fajokat. A végső fajmeghatározáshoz PCR azonosítási reakciót is végeztünk.

2.1.3. Genomi DNS izolálása

A DNS izolálása a GenElute™ Plant Genomic DNA Miniprep Kit (SIGMA-ALDRICH G2N70) segítségével történt. 50 ml PDB (27g Potato Dextrose Broth, 1000 ml végtérfogatra kiegészítve desztillált vízzel) táplevesbe oltott *Monilinia* spp. 2 napig inkubálódtak 22 °C-on rázatva (150 rpm-en). A genomi DNS izolálást a Kit protokoll leírás alapján végeztük el. Az így nyert tiszta genomi DNS-t -20 °C-on tároltuk.

2.1.4. A fajazonosítás PCR-reakciója

A *Monilinia* fajok izolátumainak fajmeghatározása a következő módszertani leírás alapján történt. Reakcióelegy (50 µl végtérfogat): Reakcióelegy (50 µl végtérfogat): 1 µl genomi DNS; 2 µl primer; forward 25 µM (Primer: UniMon_Forw); 2 µl primer, reverse 25 µM (Primer: UniMon_Rev:); 4 µl dNTP Set 5mM (Thermo Scientific R0181); 5 µl 5x Green

GoTaq® puffer (Promega M3171) ami 7,5 mM MgCl₂-ot tartalmaz; 0,5 µl GoTaq® DNS-polimeráz (Promega M3171); 31,5 µl Milli-Q víz.

Felhasznált primerek: UniMon_Forw: szekvenciája: 5'-TTGAATTCATCGGCTTGGGAGCGG-3'; UniMon_Rev: szekvenciája: 5'-AAGGATCCGAGCAAGGTGTCAAACTTCCAT-3' (Cote és mtsai., 2004).

A PCR készülékben az alábbi lépések szerint történt a reakció:

- | | | |
|-------------------|---|-----------|
| 1. 94 °C → 5 perc | } | 35 ciklus |
| 2. 94 °C → 30 sec | | |
| 3. 65 °C → 30 sec | | |
| 4. 72 °C → 30 sec | | |
| 5. 72 °C → 5 perc | | |
| 6. 4 °C → ∞ | | |

Az így kapott PCR-termékből 10 µl-t (10 µl Milli-Q víz és 4 µl 6x töltő puffer hozzáadásával), 1 %-os agaróz gélben, 10 µl 1 kb DNS-marker mellett futattuk. A fajazonosításhoz a PD 2.96 *M. laxa*, a PD 4.96 *M. fructigena* és az SF-BSZ *M. fructicola* törzseket használtuk referenciaként.

2.2. Genetikai variabilitás

2.2.1. ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) PCR-reakciója

ISSR-markerekként olyan primereket (összesen 27-et) választottunk, melyeket korábban *M. fructicola* fajnál alkalmaztak. A vizsgálatokhoz a következő reakcióelegyet állítottuk össze 50 µl végtérfogatra: 1 µl genomi DNS; 4 µl dNTP Set 5mM (Thermo Scientific R0181); 4 µl primer 25 µM; 5 µl 5x Green GoTaq® puffer (Promega M3171) ami 7,5 mM MgCl₂-ot tartalmaz; 0,5 µl Green GoTaq® DNS-polimeráz (Promega M3171); 35,5 µl Milli-Q víz.

A PCR készülékben az alábbi lépések szerint történt a reakció:

- | | | |
|----------------------|---|-----------|
| 1. 94 °C → 3 perc | } | 30 ciklus |
| 2. 94 °C → 1 perc | | |
| 3. 45 °C → 1 perc | | |
| 4. 72 °C → 1:15 perc | | |
| 5. 72 °C → 5 perc | | |
| 6. 4 °C → ∞ | | |

Az így kapott PCR-termékből 50 µl-t (10 µl 6x töltő puffer hozzáadásával), 1,4 %-os agaróz gélben, 15 µl 1 kb DNS-marker mellett futattam (1h, 110 mV).

2.2.2. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) PCR analízise

A vizsgálatokhoz a következő reakcióelegyet használtuk 50 µl végtérfogatra: 1 µl genomi DNS; 4 µl dNTP Set 5mM (Thermo Scientific R0181); 4 µl primer 25 µM; 5 µl 5x Green GoTaq® puffer (Promega M3171) ami 7,5 mM MgCl₂-ot tartalmaz; 0,5 µl Green GoTaq® DNS-polimeráz (Promega M3171); 35,5 µl Milli-Q víz. Összesen 20 primert használtunk fel.

A PCR készülékben az alábbi lépések szerint történt a reakció:

- | | |
|------------------------|-------------|
| 1. 94 °C → 5 perc | } 40 ciklus |
| 2. 94 °C → 1 perc | |
| 3. 35,5 °C → 1:10 perc | |
| 4. 72 °C → 1:10 perc | |
| 5. 72 °C → 10 perc | |
| 6. 4 °C → ∞ | |

Az így kapott PCR-termékből 50 µl-t (10 µl 6x töltő puffer hozzáadásával), 1,4 %-os agaróz gélben, 15 µl 1 kb DNS-marker mellett futattam (1h, 110 mV).

2.2.3. ITS (Internal Transcribed Spacer) szekvenálás

A vizsgálatokhoz a következő reakcióelegyet használtuk 50 µl végtérfogatra: 1 µl genomi DNS; 2 µl ITS1Mlx primer 25 µM; 2 µl ITS4Mlx primer 25 µM; 4 µl dNTP Set 5mM (Thermo Scientific R0181); 5 µl 5x Green GoTaq® puffer (Promega M3171) ami 7,5 mM MgCl₂-ot tartalmaz; 0,5 µl Green GoTaq® DNS-polimeráz (Promega M3171); 31,5 µl Milli-Q víz. Felhasznált primerek: ITS1Mlx: 5'- TATGCTCGCCAGAGAATAATC -3' és ITS4Mlx: 5'- TGGGTTTTGGCAGAAGCACACC -3' (Ioos és Frey, 2000).

A PCR készülékben az alábbi lépések szerint történt a reakció:

- | | |
|-------------------|-------------|
| 1. 94 °C → 5 perc | } 35 ciklus |
| 2. 94 °C → 30 sec | |
| 3. 65 °C → 30 sec | |
| 4. 72 °C → 30 sec | |
| 5. 72 °C → 5 perc | |
| 6. 4 °C → ∞ | |

Az így kapott PCR-termékből 10 µl-t (4 µl 6x töltő puffer hozzáadásával), 1 %-os agaróz gélben, 15 µl 1 kb DNS-marker mellett futattam. (1 h, 120 mV).

2.2.4. PCR sávok kiértékelése

Az ISSR és RAPD PCR elvégzése után a gélelektroforézis eredményeképpen létrejött sávmintázatot a GelAnalyzer 2010 program segítségével elemeztük, és a polimorf sávok jelenlétéhez, illetve hiányához bináris változókat rendeltünk (1, illetve 0), majd az így kapott adatokat mátrixba rendeztük és UPGMA cluster analízist követően dendrogramon ábráztuk.

2.2.5. Nei index

Az ISSR adatokból Nei (1975) szerint a *M. laxa* izolátumok genetikai diverzitását (H_T) határoztuk meg. A H_T genetikai diverzitás felosztható a szubpopulációkon belüli (H_S) és azok közötti genetikai diverzitásra (D_{ST}). $H_T = H_S + D_{ST}$ minden összetevőjét kiszámoltuk Nei (1987) alapján. A gén differenciációs koefficiensét a következőképpen számoltuk Nei (1987) szerint: $G_{ST} = D_{ST} / H_T$. A G_{ST} adatok értékei 0.0 (nincs különbség a szubpopulációk között) és 1.0 (teljes különbség a szubpopulációk között) közé eshet. A populációk közötti génáramlás mennyisége Nm , ahol N a valódi populáció méret és m az egyedek azon része a populációban, amelyek bevándorlók. Ennek a becslésére a következő összefüggést használtuk Wright (1951) alapján: $Nm = 0,5 \times (1 / G_{ST} - 1)$. Ha $Nm < 1$, akkor a szubpopulációk között különbség van és hajlamosak a differenciálódásra, míg ha $Nm > 1$, csekély különbség van a szubpopulációk között (Wright, 1951).

2.3. Járváydinamika és előrejelző modellek

2.3.1. Ültetvények helyszínei és betegségfelvételezés

Két kelet-magyarországi almagyümölcsösben (Nagykálló és Eperjeske) végeztük a vizsgálatokat 2002 és 2006 között. A telepítés 4 x 1,5 m-es térállásban Nagykállóban M9-es, míg Eperjeskén M26-os alanyokon történt 1996-ban. A magyar ökológiai termesztési irányelveket (Anon, 1997) alkalmaztuk. A permetezéseket Kertitox 2000 permetezőgéppel végeztük, 1000 l/ha permetlé mennyiséggel. A csapadékmennyiséget és a hőmérsékletet METOS agrometeorológiai állomással mértük május 1-től október 10-ig. Mindkét ültetvényben ugyanazon három almafajtát (korai: Prima és késői: Idared és Mutsu) választottuk ki a betegség felvételezéséhez. Havonta mértük a gyümölcsméretet is. Mindkét gyümölcsösben 4 ismétlésben végeztük a felvételezéseket. 20 fát választottunk ki véletlenszerűen. Minden kiválasztott fán 100 gyümölcsöt vizsgáltunk heti rendszerességgel május 20-tól augusztus 30-ig a Prima fajtán és október 10-ig az Idared és Mutsu fajtákon. A gyümölcsfertőzöttség gyakoriságát a beteg gyümölcsök százalékos aránya alapján számoltuk.

2.3.3. Függvényábrázolás és -változók

A heti rendszerességgel nyert adatokat idősoros függvényben ábrázoltuk, majd háromparaméteres logisztikus modellt illesztettünk az adatsorra: $Y_t = Y_f / (1 + e^{-\beta(t-M)})$. A modell paraméterei: Y_t = a betegség gyakorisága t időpontban, Y_f betegség fertőzöttségi gyakorisága az utolsó felvételezési időpontban (%), β a betegség lefolyás relatív sebessége és M inflexióspont, ahol a betegség lefolyás a leggyorsabb. A modell az R 2.8.1 „nlme” (nonlinear mixed-

effect) statisztikai programmal került illesztésre (Anon, 2008). A legjobban illeszkedő modell kiválasztásához az Akaike's Information Criterion (AIC) és a Bayesian Information Criterion (BIC) használtuk fel.

2.3.4. Gyümölcsrothadás előrejelzési és védekezési stratégia kidolgozása (GEVS)

A GEVS-t három lépésben fejlesztettük ki: először megalkottunk egy alapmodellt, aztán előrejeleztük az első gyümölcsrothadási tünetek megjelenését és végül a rovarsérülések előrejelzését összekapcsoltuk a gyümölcsrothadás mértékével. Az alapmodell négy részből áll: a kórokozó almodellek számítógépes szimulációjával történő adatbevitel és elemzés, a betegség gyakoriságán alapuló termésveszteségi küszöbértékek kiszámítása; járványintenzitási szintek meghatározása és betegség elleni védekezési módszerek kidolgozása az egyes járványintenzitási szinten

2.3.5. Alapmodell

Az alapmodellben az adatbevitel és elemzés patogén almodellek számítógépes szimulációjával történt. Ehhez az időszaki spóraszóródás becsléséhez autoregressziós modelleket használtunk (hat autoregressziós paraméterrel, (Φ_i) (Holb, 2008 módszere alapján) *M. fructigena*-ra kifejlesztve: $Y_t = \sum \Phi_i Y_{t-1} + a_t$. Erre alapozva Holb (2008) a Gompertz függvényt arra használta, hogy leírja az időszakos spóraszóródás és a betegség gyakorisági adatok közötti kapcsolatot, és ezzel a gyümölcsrothadási folyamat időbeni lefolyása előrejelezhető volt a spóraszóródási adatok alapján. A termésveszteségi küszöbérték és a járványintenzitási szint meghatározásához az alapmodellben a gyümölcsrothadási folyamat küszöbértékét az AUDPCs, Y_f és a β paraméterek maximális értékét adtuk meg, amit a háromparaméteres Gompertz függvénymodellből határoztunk meg.

2.3.6. Az első tünetek megjelenése és a rovarsérülések előrejelzése

Az első tünetek megjelenését Holb és Scherm (2007) tanulmánya alapján határoztuk To kezdőidőpont meghatározásával. Holb és Scherm (2008) tanulmánya alapján tudjuk, hogy a gyümölcssérülések jelentős részét az almamoly lárvája okozza. Ebben a tanulmányban kidolgozott almamoly feromoncsapdázás és a rovarsérülés közötti regressziós egyenlet, valamint a rovarsérülés és gyümölcsrothadás gyakorisága közötti korrelációs értékeket használtuk az előrejelző modellünkben a rovarsérülések küszöbérték szintjeinek meghatározásához.

2.3.7. A GEVS gyakorlati értékelése permetezési programokban

Eperjeskén és Nagykállón, Idared fajtánál három blokkban vizsgáltuk a GEVS hatékonyságát. Az első blokk kezelése a GEVS alapján történt, a másodikban IFOAM előírásait használtuk, míg a harmadik kontroll (kezelés nélküli) parcellaként funkcionált. A vizsgálatokat 2006-2008 között végeztük négy ismétlésben. A területeket először Funguran-OH 50 WP-vel (77% réz-hidroxid,) kezeltük minden alkalommal (2006. február 15, 2007. február 19, 2008. február 11) 1 kg/ha dózisban. További permetezések: Kumulus S (80% elemi kén) 4 kg/ha dózisban gyümölcsötés utáni ötödik héttől szüretig. Almamoly ellen Dipel ES-t (3,2 % *Bacillus thuringiensis*) használtunk. Holb és Scherm (2008) szerint minden évben a gyümölcsrothadás gyakoriságát és a rovarsérülés előfordulásának gyakoriságát szüretkor értékeltük. A három blokk különbségeit varianciaanalízissel értékeltük SZD 5%-os valószínűségi szinten.

2.4. Csökkentett permetezési programok hatása az alma jelentősebb gombakórokozóira környezetkímélő termesztési rendszerekben

A vizsgálatokat Eperjeskén két termő korú almaültetvényben végeztük el 2008-ban és 2009-ben. Az egyik kísérleti ültetvényben integrált, a másikban az ökológiai termesztés szabályai szerint kezeltük a területet a telepítés évétől 1996-tól kezdődően. Mindkét ültetvényben a vizsgálatokat Idared almafajtán végeztük. A telepítés 5 × 2 m-re történt M26-os alanyon. Összesen 4 permetezési programot hasonlítottunk össze. Integrált termesztésben a standard permetezési program mellett csökkentett permetezési programot valósítottunk meg. A csökkentett permetezési programban is ugyanazokat az anyagokat használtuk, de a permetezések számát 25%-kal csökkentettük. Az ökológiai ültetvényekben a standard permetezési program mellett szintén megvalósult a csökkentett permetezési program, mely 40%-os permetezés-szám csökkenésben realizálódott. 2008 és 2009 augusztus végén a levelek és gyümölcsök varasodásfertőzöttségi gyakoriságát vételeztük fel kezelésenként 5 fán. Minden egyes fán 50 véletlenszerűen kiválasztott levél és gyümölcs tünetfelmérésével határoztuk meg a fertőzöttség gyakoriságát. Ugyanezen a napokon 20 véletlenszerűen kiválasztott hajtás és 50 véletlenszerűen kiválasztott gyümölcs lisztharmat-fertőzöttségét is meghatároztuk kezelésenként 5 fán. A gyümölcsök monília fertőzöttségét ugyancsak kezelésenként 5 fán és fánként 50 véletlenszerűen kiválasztott gyümölcsön vételeztük fel. A statisztikai elemzéseket variancia-analízissel hajtottuk végre SZD 5%-os valószínűségi szinten. A permetezési programok közötti különbségeket külön elemeztük az integrált és az ökológiai termesztésben.

2.5. Fungicid-rezisztencia vizsgálat

A vizsgálatokhoz a *Monilinia* fajok ellen használt növényvédő szerek közül tízet teszteltünk (1. táblázat). A gombaölő szerek csomagolásán feltüntetett gyártó által javasolt dózis alapján 0,5x, 1x és 2x-szeres töménységeket teszteltünk PDA táptalajba kevertük és erre helyeztük a kiválasztott *M. laxa* izolátumok 3 napos tenyészeiből kivágott táptalaj korongot (kb. 6mm átmérő). Összesen 12 *M. laxa* izolátumot teszteltünk (MLX-SP-P18, MLX-FO-P7, MLX-DBP-O1, MLX-SF-SC3, MLX-VSZ-P21, MLX-BF-P1, MLX-KL-P10, MLX-EP-P6, MLX-KNY-P9, MLX-KB-SC1, MLX-BE-P3, MLX-MV-P12). A PDA táptalajon sötétben, 22 °C-on tartott izolátumok növekedését (telepátmérőt) mértük 5 és 10 napos inkubálást követően és a fungicid hatóanyagok növekedés gátló hatását %-ban fejeztük ki. A kísérletet négyszer ismételtük meg.

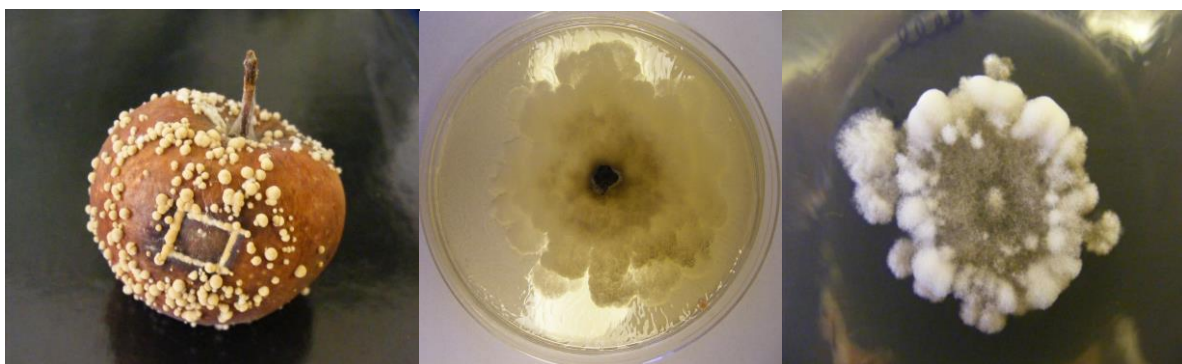
1. táblázat: Fungicid rezisztencia vizsgálatokhoz felhasznált növényvédő szerek.

Növényvédő szer	Hatóanyag	Gyártó	Alkalmazhatóság	Dózis
Captan 50 WP	50 % kaptán	Arysta (US)	almatermésűek	2-3,2 kg/ha
Chorus 50 WG	500 g/kg ciprodinil	Syngenta (CH)	alma, körte	0,4-0,45 kg/ha
Indofil M-45	80% mankoceb	Indofil Ch. (I)	almatermésűek	2-3,2 kg/ha
Kén 800 FW	800 g/l kén	Agrokémia Sellye Rt.	kajszi-barack	6-7 l/ha
Mirage 45 EC	450 g/l prokloráz	Makhteshim (IL)	csonthéjasok	0,3-0,5 l/ha
Signum WG	27% boscalid+7% piraklostrobin	BASF (DE)	csonthéjasok	0,75-1 kg/ha
Sythane Duplo	240 g/l miklobutanil	Dow AgroSciences	csonthéjasok	0,13 l/ha
Teldor 500 SC	500 g/l fenhexamid	Bayer (DE)	csonthéjasok	1 l/ha
Topas 100 Ec	10% penkonazol	Syngenta (CH)	csonthéjasok	0,5 l/ha
Topsin M 50 WP	70% tiofenát-metil	Nippon Soda (JP)	almatermésűek	0,8-1,6 kg/ha

3. EREDMÉNYEK

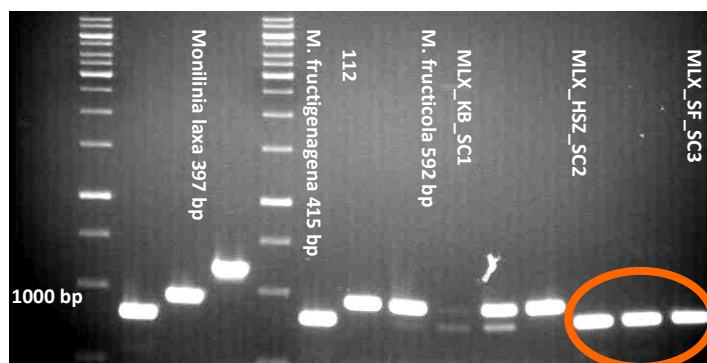
3.1. Fajazonosítás klasszikus és molekuláris biológiai módszerekkel

Az ország minden tájáról származó, összesen 202 fertőzött növényi részről 138 *M. fructigena* és 64 *M. laxa* fajt sikerült izolálni. A Koch-féle posztulátum alapján visszafertőzött almagyümölcsökön 1-2 mm nagyságú, okkersárga, illetve szürke színű exogén sztrómák jelentek meg, mely alapján egyértelműen *M. fructigena* volt azonosítható (1a ábra). A táptalajon történő azonosítás egyértelműen *M. fructigena* és *M. laxa* telepmorfológiai jellemzőit igazolta vissza (1b,c ábra).



1. ábra: a) *M. fructigena*val visszafertőzött alma gyümölcs **b)** *M. laxa* PDA táptalajon **c)** *M. fructigena* PDA táptalajon (Fotók: Fazekas Mónika).

A molekuláris biológiai módszerrel történő azonosítás is igazolta, hogy az izolátumok a *M. laxa* és a *M. fructigena* fajokhoz tartoznak (2. ábra).

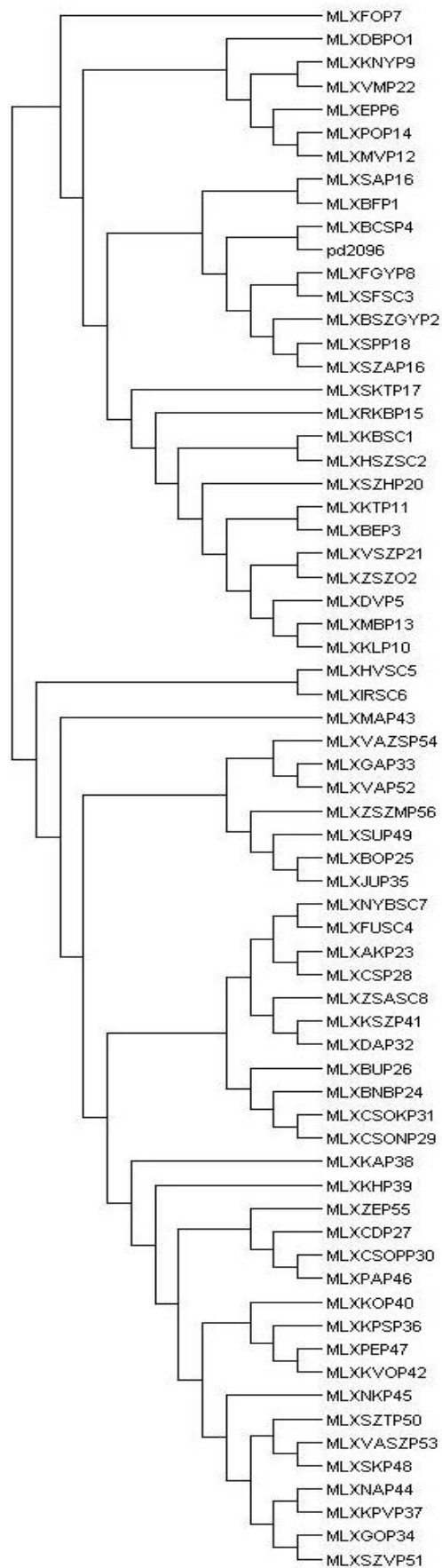


2. ábra: Fajazonosítás molekuláris biológiai módszerrel.

3.2. Genetikai variabilitás vizsgálat

3.2.1. ISSR-PCR értékelés

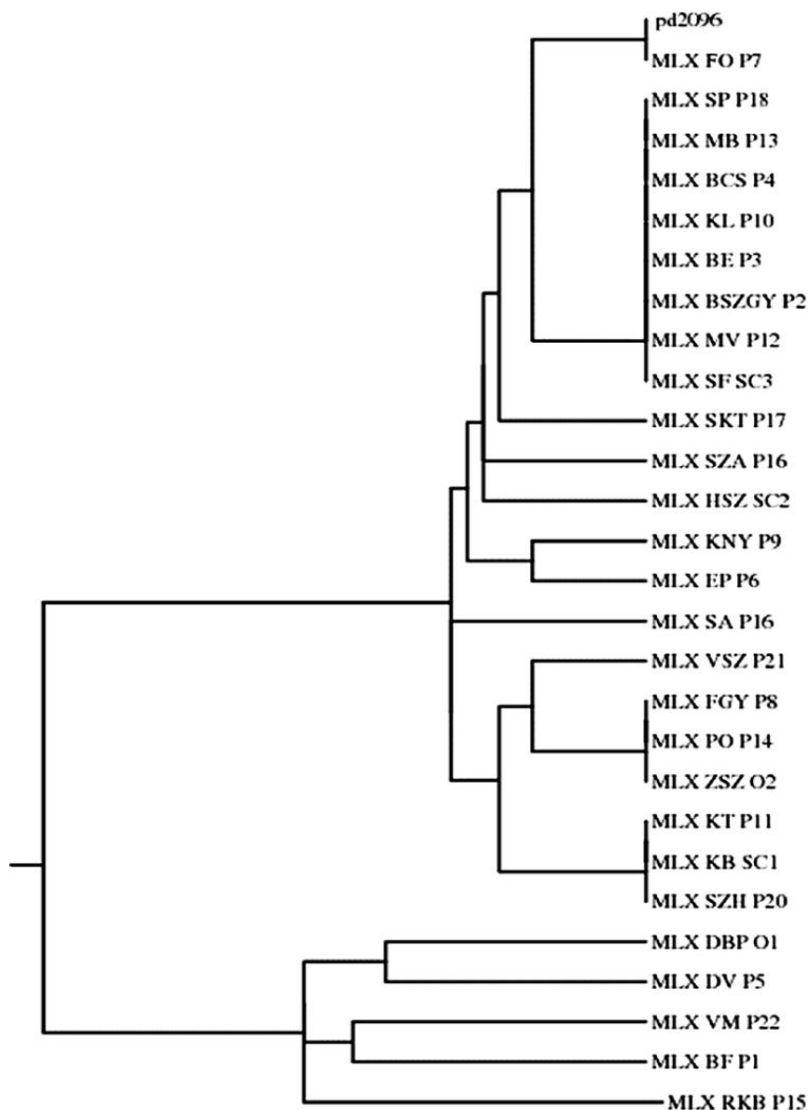
A kísérlethez felhasznált primerek közül 4 bizonyult a vizsgálat szempontjából alkalmasnak, melyek összesen 53 sávot adtak a PCR reakció során, ezek közül 20 volt monomorf, 33 pedig polimorf. Primerekre lebontva ez azt jelentette, hogy az (AC)₈T primerrel végzett reakció során összesen 8 sávot kaptunk, ezek közül 4 volt monomorf és 4 polimorf. Az (AG)₈TC esetén 13 sávot kaptunk (5 monomorf, 8 polimorf). Az (AC)₈TC primernél 12 sávot kaptunk (2 monomorf, 10 polimorf) és az (AC)₈CT esetén pedig összesen 20 sávot kaptunk (9 monomorf, 11 polimorf). A kapott sávmintázatok (GelAnalyzer 2010) (<http://www.gelanalyzer.com>) elemzését követően bináris mátrixokat készítettem: a sávok jelenlétéhez 1-et, hiányához 0-t rendeltem, majd számítógépes program (UPGMA) (<http://genomes.urv.cat/UPGMA/index.php?entrada=Example3>) segítségével dendrogramot generáltam (3. ábra). A törzsfa szerkezetén jól látható, hogy alapvetően két nagy ágat különböztethetünk meg, melyek aztán több kisebbre ágaznak el. Az eredmények alapján megállapítható, hogy a különböző csoportok kialakulása nem köthető egyértelműen sem az izolátumok földrajzi elterjedéséhez, sem pedig a gazdanövényhez.



3. ábra: *Monilina laxa* izolátumok ISSR-PCR analízise során készült dendogramja.

3.2.2. RAPD-PCR értékelés

A tesztelt 39 primerből 20 bizonyult alkalmasnak a vizsgálat szempontjából, mert tiszta és reprodukálható sávok jöttek létre, melyek RAPD markerekként használhatóak. Mindegyik 1-8 sávot eredményezett, melyek mérete 200 és 1500 bázispár mérettartományba esik. A PCR vizsgálat eredményéből összesen 82 sáv jött létre, melyekből 28 volt polimorf és 54 monomorf. A RAPD-PCR vizsgálat eredményei alapján is az állapítható meg, hogy a különböző csoportok kialakulása nem köthető egyértelműen sem az izolátumok földrajzi elterjedéséhez, sem pedig a gazdanövényhez (4. ábra).



4. ábra: *Monilina laxa* izolátumok RAPD PCR analízise során készült dendogramja.

3.2.3. ITS szekvenálás értékelése

A 356 bp hosszú termékeket (ITS1-5,8S rRNS gén-ITS2) megszekvenáltattuk (Eurofins MWG Operon's DNA sequencing service: Eurofins Genomics, 85560 Ebersberg, Németország). Valamennyi izolátum esetében a nukleotid sorrend teljesen azonosnak bizonyult.

3.2.4. A genetikai szerkezet elemzése

A populáció szerkezetének elemzésékor a földrajzi elhelyezkedés, a gazdanövény és a gyümölcs érettségi állapotának figyelembe vételével az ISSR-PCR és RAPD-PCR adatok azt mutatták, hogy a szubpopulációkon belüli diverzitás ($H_S=0,824-0,382$ és $0,956-0,961$) a teljes genetikai diverzitásnak a 99%-a ($H_T=0,832-0,838$ és $0,962-0,968$) (2. táblázat).

2. táblázat: Nei féle genetikai diverzitás értékek (teljes genetikai diverzitás, szubpopulációkon belüli és közötti genetikai diverzitás, géndifferenciálódási együttható) *M. laxa* populációk közötti génáramlás 3 földrajzi elhelyezkedés (Nyugat-Magyarország, Északkelet-Magyarország, Dél-Magyarország), 3 gazdanövény (szilva, őszibarack, meggy) és 3 gyümölcsérési állapot (fiatal, érett, mumifikált) esetén.

Populációk	H_T	H_S	D_{ST}	G_{ST}	Nm
ISSR-PCR					
3 földrajzi elhelyezkedés	0,838	0,832	0,006	0,007	70,29
3 gazdanövény	0,832	0,824	0,007	0,009	53,86
3 gyümölcs érettségi állapot	0,836	0,831	0,004	0,005	99,15
RAPD-PCR					
3 földrajzi elhelyezkedés	0,962	0,957	0,005	0,005	93,98
3 gazdanövény	0,962	0,956	0,006	0,006	81,31
3 gyümölcs érettségi állapot	0,963	0,957	0,006	0,006	83,06

A szubpopulációk közötti genetikai diverzitás ($D_{ST}=0,004-0,007$ és $0,005-0,007$) ugyanilyen feltételek mellett viszont mindössze 1%-os volt. A szubpopulációk közötti gén differenciálódás (G_{ST}) relatív terjedelme 0,005 és 0,009, illetve 0,005 és 0,007 közötti értékeket mutatott. A generációnkénti migrációs szám (Nm) 53,9 és 99,2, illetve 73,8 és 93,0 közöttinek mutatkozott, ami a populációk közötti csekély különbségre utal. Az eredményekből arra következtethetünk, hogy a három populáció egymáshoz nagyon hasonló.

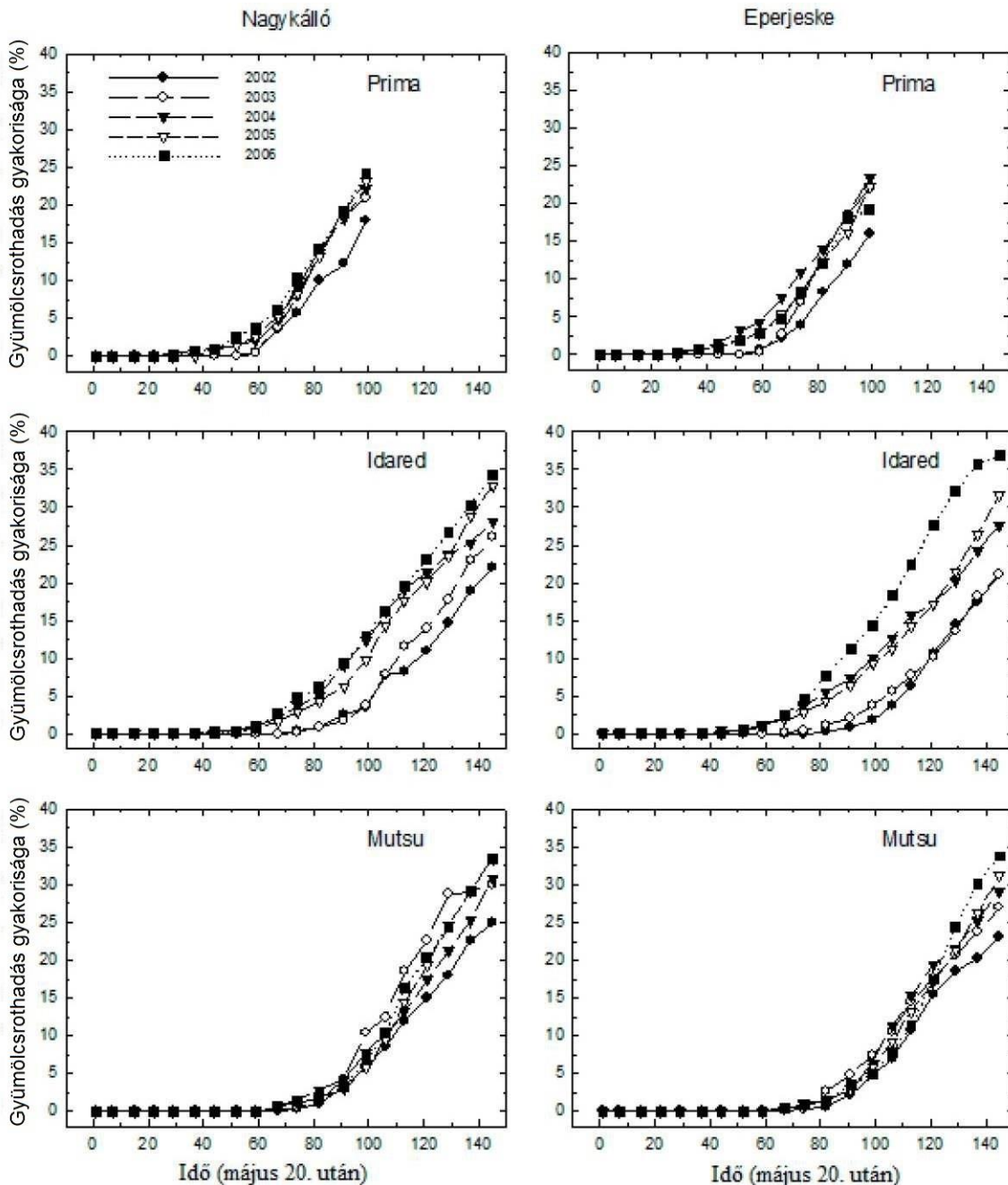
3.3. Járványdinamikai vizsgálatok és az előrejelző módszerek kidolgozása

3.3.1. Időjárási tényezők és a gyümölcsrothadás időbeni gyakorisága

A 2003. szárazabb évjárat kedvező volt az almamoly kártételének, míg a 2005, 2006, 2007 és 2008 évek a betegségek kialakulásának kedveztek. Prima almafajtánál a monilíniás megbetegedés minden évben és mindkét helyszínen június végén vagy július elején kezdődött, míg Idared és Mutsu fajtáknál július végére vagy augusztus első napjaira tehető. A betegség lefolyása folyamatos növekedést mutatott 6-8 hétig a szüret előtti időszakban, majd kiegyenlítődött évtől, ültetvénytől és elhelyezkedéstől függően (5. ábra). A monilíniás gyümölcsrothadást, ahogy a 5. ábrán is látható az év, a fajta és a helyszín is befolyásolta. Valamennyi variációban az adatokra legjobban illeszkedő modell a 3 paraméteres logisztikus modell volt, ezért a modell kialakításánál is erre a modellre alapoztunk.

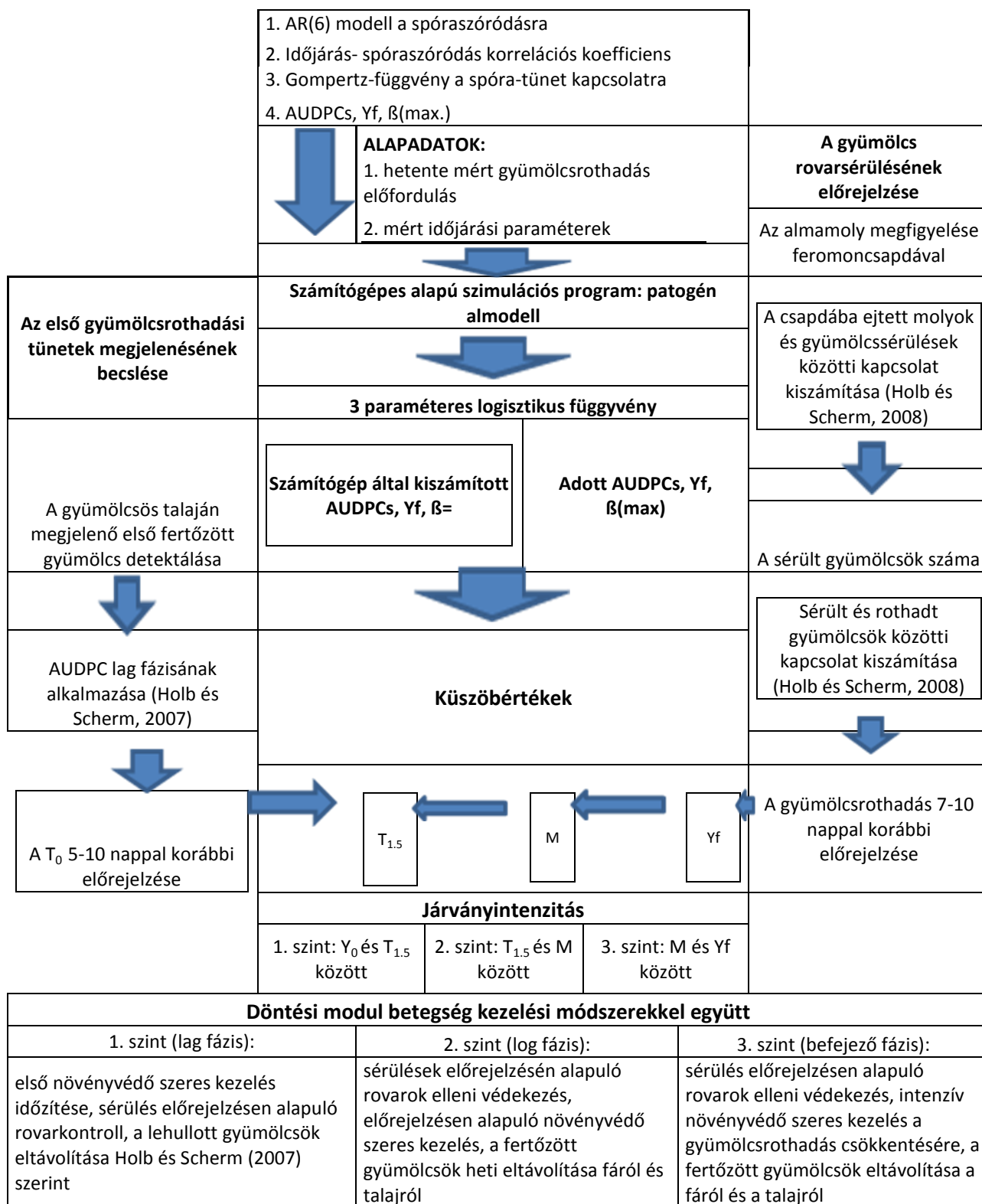
3.3.2. Gyümölcsrothadás előrejelzési és védekezési stratégia

A gyümölcsrothadás előrejelzési és védekezési stratégiánk megalkotásához egy számítógépes patogén almodellt használtunk, amelyhez az ültetvényekben gyűjtött adatokat és matematikai elemzési módszereket (matematikai függvényeket, illetve azokból származtatott paramétereket) használtunk fel. Ezek az alábbiak voltak: AR6 modell a spóraszóródásra, korrelációs együtthatók az időjárási tényezőkre, 3 változós Gompertz függvény a spóra terjedés és a betegség terjedése közti kapcsolat leírására, illetve a járványt leíró 3 paraméteres logisztikus függvényből származó AUDPC_s, Y_f és β értékek. Az AUDPC_s, Y_f és β értékek egy adott időponthoz tartozó függvényre vonatkoznak. Ezeket hasonlítottuk össze a számítógépes program futtatásakor megadott maximum értékekkel.



5. ábra: A *Monilinia fructigena* által előidézett gyümölcsrothadás gyakorisága 3 almafajta esetében (Prima, Idared és Mutsu) két almaültetvényben (Nagykálló és Eperjeske) 2000-2006 években.

Ha a kiszámított értékek elérték a megadott maximális szintet, akkor szükségessé vált a gyümölcsrothadási gyakoriság küszöbértékeinek meghatározása. Az első küszöbérték az az időpont, amikor a gyümölcsfertőzöttség eléri a 1,5 %-ot ($T_{1,5}$), a második küszöbérték az inflexiós pont (M), a harmadik (egyben utolsó) pedig a maximális fertőzöttségi érték (Y_f). Mindegyik küszöbérték a betegség egy intenzitási szintjének felel meg (6. ábra).



6. ábra: Gyümölcsrothadás előrejelző és kezelési stratégia (GEVS) *Monilinia fructigena* ellen almagyümölcsösben. AR6 modell: autoregresszív modell 6 autoregresszív paraméterrel, AUDPC: a betegség folyamatát leíró görbe alatti terület (% napok); AUDPC_S: a betegség folyamatát leíró görbe alatti egységes terület (% napok); Y_f: az utolsó betegség előfordulás (%); β: relatív növekedési változó (nap⁻¹); T₀: az az időpont, amikor a gyümölcsön előforduló tünetek először megjelennek a fán (nap); T_{1.5}: az az időpont, amikor a betegség eléri az 1.5 %-ot (nap), és M: inflexió pont napokban mérve.

Az GEVS első küszöbértéke az első fertőzött gyümölcs megjelenési idejének előrejelzésére szolgál. Holb és Scherm (2007) vizsgálatai szerint ehhez a gyümölcsös talaján megjelenő első fertőzött gyümölcsöt kell detektálni, majd az AUDPC lag fázisának alkalmazásával előre tudjuk jelezni az első tünetek megjelenését a fákon (T_0). Ezzel a megközelítéssel lehetővé válik, hogy 5-10 nappal az első tünetek megjelenése előtt előre jelezhessük a betegséget a fákon.

A GEVS sikere nagyban függ a rovarsérülés előrejelzésétől. Ennek alapja az almamolyok feromoncsapdázása. A befogott molyok és gyümölcssérülések közötti kapcsolat kiszámításához Holb és Scherm (2008) regressziós modelljeit használhatjuk fel. Majd erre alapozva a sérült és megbetegedett rothadt gyümölcsök közötti kapcsolat kiszámítását is elvégezhetjük. Mindezek alapján 7-10 nappal korábban tudjuk előre jelezni az újonnan fertőzött, sérült gyümölcs megjelenését.

A fentiek alapján a döntési modellben 3 védekezési szakaszt lehet elkülöníteni. Az első a rovarok elleni megelőző védekezésre és földre hullott sérült gyümölcsök eltávolítására alapoz Holb és Scherm (2007) eredményei szerint. A második szakaszban sérülések előrejelzésen alapuló rovarok elleni védekezés és a fertőzött gyümölcsök heti eltávolítása fáról és talajról. A harmadik, egyben utolsó szakaszban sérülés előrejelzésen alapuló folyamatos rovarok elleni védekezés, valamint a gyümölcsrothadás csökkentése érdekében fungicides permetezési programokra is szükség van a fertőzött gyümölcsök eltávolítása mellett.

3.3.4. A GEVS gyakorlati értékelése általános permetezési programokban

A gyümölcsrothadás elleni éves permetezésszám 8 és 12 között változott a hagyományos IFOAM permetezési rendben, ugyanakkor az új GEVS védekezési stratégiával ezt 6-8 alkalomra csökkentettük mindkét ültetvényben és mindhárom évben (3. táblázat). Az új GEVS stratégiával gyümölcsrothadás elleni védekezések száma ökológiai almaültetvényekben 22.2-33.3%-kal csökkent az IFOAM általános permetezési rendjével szemben. A gyümölcsrothadás és gyümölcssérülés gyakorisága szignifikánsan nem különbözött a GEVS és az IFOAM permetezési programokban, ugyanakkor mindkét programban szignifikánsan ($P < 0,005$) alacsonyabb volt a kezeletlen kontroll területekhez képest.

A GEVS stratégia az éves permetezések számát harmadára csökkentette, ami 2-4-szer kevesebb kezelést jelent a nyár folyamán. A gyümölcsrothadás elleni nyári permetezés

csökkentés egybeesik a varasodás elleni kezelés elhagyásával, mivel az időszak második felében a gyümölcs ellenállóbbá válik a ventúriás varasodással szemben.

3.táblázat: Permetezésszám, utolsó gyümölcsrothadás előfordulása és a sérülések előfordulásának aránya szüret idején (%) a három hónapos permetezési programban a két almagyümölcsösben (Nagykálló és Eperjeske, 2006-2008).

Kezelések ^b	Permetezésszám			Gyümölcsrothadás és -sérülés előfordulás (%) ^a		
	2006	2007	2008	2006	2007	2008
NAGYKÁLLÓ						
GEVS	8,3 ^c b ^d	7,5 a	7,5 b	26,1 (30,3) a	28,6 (33,1) a	23,3 (20,3) a
Általános IFOAM	12,0 b	9,3 b	10,5 b	23,3 (28,6) a	27,1 (30,2) a	26,4 (22,2) a
Kezeletlen kontroll	- ^e	-	-	52,5 (58,9) b	58,4 (55,5) b	45,1 (41,8) b
LSD _{0,05} ^f	2,6	1,4	2,0	10,7 (11,2)	12,1 (10,1)	8,9 (9,6)
EPERJESKE						
GEVS	7,3 a	6,5 a	8,3 a	24,2 (28,3) a	22,6 (27,2) a	25,2 (20,4) a
Általános IFOAM	9,5 b	8,8 b	11,8 b	26,5 (32,1) a	26,4 (30,1) a	24,4 (21,2) a
Kezeletlen kontroll	-	-	-	52,6 (61,4) b	50,8 (58,7) b	57,1 (48,2) b
LSD _{0,05}	1,6	1,4	2,8	14,2 (15,1)	13,1 (9,9)	16,1 (11,9)

^a Zárójelben a rovarsérülés előfordulás százalékos aránya.

^b GEVS: gyümölcsrothadás előrejelzés és kezelési stratégia szerint alkalmazott permetezés, Általános IFOAM: általános gyümölcsrothadás kezelés, és kontroll: nincs gyümölcsrothadás és rovarkezelés.

^c A négy ismétlés átlagértékei.

^d Az értékeket az oszlopokon és a helyszíneken belül különböző betűk követik, amelyek szignifikáns különbséget mutatnak.

^e Nem történt kezelés. A kontrollt nem tartalmazza a statisztikai elemzés.

^f Az egyes kezelések átlagértékeinek összehasonlítása legkisebb szignifikáns különbség teszttel ($P = 0,05$).

3.4. Csökkentett permetezési programok hatása az alma jelentősebb gombakórokozóira környezetkímélő termesztési rendszerekben

Az alma ventúriás varasodás gyakorisága integrált termesztési rendszerekben elérte a 10%-ot, míg az ökológiai termesztésben 30% fölötti volt ez az érték 2008-ban. Csökkentett permetezésszám esetén ökológiai kezeléseknél a gyakoriság 50% fölé emelkedett. Az almafalisztharmat előfordulási gyakorisága alacsony volt mind a standard mind a csökkentett integrált permetezési programokban (2% alatti). A lisztharmat fertőzöttség gyakorisága 10% fölött volt az ökológiai ültetvényben. Ökológiai termesztésben a csökkentett permetezési programban a lisztharmat-fertőzöttség gyakorisága szignifikánsan növekedett. A monília-fertőzöttség minimális volt az integrált permetezési programokban. Ugyanakkor jelentős mértékű gyümölcsfertőzöttség volt tapasztalható mindkét ökológiai termesztési programban.

Az alma ventúriás varasodás gyakorisága integrált termesztési rendszerekben nem haladta meg a 10%-ot, míg az ökológiai kezelésben 20% fölötti volt ez az érték 2009-ben. A csökkentett integrált permetezési programban nem növekedett a fertőzöttségi gyakoriság, míg

ökológiai termesztésben a gyakoriság 30% fölé emelkedett. Az almafalisztharmat előfordulási gyakorisága alacsony volt mind a standard mind a csökkentett integrált permetezési programokban (5% alatti). A lisztharmat fertőzöttség gyakorisága 20% fölött volt az ökológiai ültetvényben. Ökológiai termesztésben a csökkentett permetezési programban a lisztharmat-fertőzöttség gyakorisága szignifikánsan növekedett. A monília-fertőzöttség minimális volt az integrált permetezési programokban. Ugyanakkor jelentős mértékű gyümölcsfertőzöttség volt tapasztalható az ökológiai termesztési programokban és a csökkentett permetezési programban a fertőzöttségi érték duplájára emelkedett.

Eredményeink azt mutatták, hogy a tenyésztő második felében végzett permetezésszám csökkentésnek az integrált termesztésben lehet gyakorlati alkalmazása. Ökológiai termesztésben a jelentős betegségi szint emelkedés a növényvédelmi kezelések elhagyásának súlyos növényvédelmi kockázatát mutatta, ezért annak gyakorlati alkalmazása nem javasolt.

3.5. Fungicid-rezisztencia vizsgálat

A fungicid hatóanyagok *M. laxa* izolátumok növekedésére gyakorolt *in vitro* PDA táptalajon történő gátló hatását az 4. táblázat tartalmazza. A kísérletet négyszer végeztük el, így a táblázatban átlagértékeket tüntettünk fel. Öt gombaölőszer (tiofanát-metil, kaptán, penkonazol, miklobutanil, mankoceb) teljesen gátolta (100%) mind a 12 izolátum növekedését mindhárom dózis alkalmazásakor már az 5. napi inkubálást követően. Ugyanakkor a többi hatóanyagcsoport (boszkalid+piraklostrobin, elemi kén, ciprodinil, fenhexamid és prokloráz) esetén az izolátumok eltérő érzékenységet mutattak (4. táblázat). Az izolátumok érzékenységének különbsége a 10 napos inkubáció után magasabb volt, mint 5 nap után. Majdnem mindegyik vizsgált *M. laxa* izolátum szignifikánsan ($P < 0,05$) érzéketlen volt az elemi kénre. Az MLX-FO-P7, MLX-SF-SC3, MLX-KL-P10 és MLX-BE-P3 izolátumok szintén részlegesen érzéketlenek voltak boszkalid+piraklostrobin, ciprodinil és fenhexamid hatóanyagokra ($P < 0,05$). Ráadásul az MLX-BE-P3 izolátum ellenálló volt a proklorázra is ($P < 0,05$).

4. táblázat: A fungicid hatóanyagok *Monilinia laxa* izolátumok növekedését gátló hatásának %-os értékei 0,5x; 1x és 2x-es dózisok alkalmazása mellett *in vitro* PDA táptalajon 5 és 10 napos inkubálást követően 22 °C-on.

Hatóanyag	boszkalid+piraklostrobin			elemi kén			ciprodinil			fenhexamid			prokloráz		
	0,5x	1x	2x	0,5x	1x	2x	0,5x	1x	2x	0,5x	1x	2x	0,5x	1x	2x
5. nap															
izolátumok															
MLX-SP-P18	95	100	100	70	85	90	95	95	100	100	100	100	100	100	100
MLX-FO-P7	81	88	94	68	84	92	94	100	100	88	100	100	100	100	100
MLX-DBP-O1	100	100	100	63	73	90	67	83	100	100	100	100	100	100	100
MLX-SF-SC3	100	100	100	47	60	85	67	83	100	33	50	67	100	100	100
MLX-VSZ-P21	100	100	100	70	80	91	100	100	100	100	100	100	100	100	100
MLX-BF-P1	100	100	100	72	80	93	83	92	100	100	100	100	100	100	100
MLX-KL-P10	92	100	100	72	84	92	83	100	100	100	100	100	100	100	100
MLX-EP-P6	100	100	100	70	82	94	90	100	100	100	100	100	100	100	100
MLX-KNY-P9	100	100	100	93	97	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
MLX-KB-SC1	87	93	100	93	95	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
MLX-BE-P3	70	90	100	60	80	90	90	100	100	70	80	90	50	80	90
MLX-MV-P12	100	100	100	73	87	93	93	100	100	100	100	100	100	100	100
10. nap															
MLX-SP-P18	93	100	100	73	83	97	87	90	93	100	100	100	100	100	100
MLX-FO-P7	88	92	96	74	78	92	88	92	92	80	93	100	100	100	100
MLX-DBP-O1	100	100	100	78	86	96	76	88	92	100	100	100	100	100	100
MLX-SF-SC3	88	93	100	57	65	92	50	67	83	27	43	52	100	100	100
MLX-VSZ-P21	100	100	100	60	80	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
MLX-BF-P1	90	95	100	75	85	95	75	85	90	100	100	100	100	100	100
MLX-KL-P10	80	87	93	77	83	93	80	87	93	87	94	100	100	100	100
MLX-EP-P6	98	93	97	77	96	100	97	97	100	100	100	100	100	100	100
MLX-KNY-P9	100	100	100	81	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
MLX-KB-SC1	84	93	97	80	91	95	100	100	100	100	100	100	100	100	100
MLX-BE-P3	30	50	90	50	73	82	80	90	100	40	50	70	0	40	60
MLX-MV-P12	100	100	100	83	87	93	93	97	97	97	100	100	100	100	100

4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Munkánk során az alábbiakban felsorolt eredményeket tekintjük új tudományos eredményeknek:

- A *M. laxa* izolátumaink genetikai vizsgálatai alapján megállapítottuk, hogy a *M. laxa* populáció genetikai variabilitása független a földrajzi elhelyezkedéstől, az inokulum forrástól, a gazdanövénytől és emellett a gomba fungicidekkel szembeni érzékenységétől is. A szubpopulációkon belüli diverzitás viszont nagy, 99% körüli volt.
- Munkám során a betegség időbeni dinamikáját háromparaméteres logisztikus függvénnyel írtuk le, mely lehetőséget adott arra, hogy a *Monilinia* fajok által okozott fertőzés kialakulását, illetve időbeni járványdinamikáját jellemezzük és felhasználhassuk a betegség elleni előrejelzésben is.
- Kidolgoztunk egy olyan előrejelző és védekezési rendszert (GEVS), amely a *M. fructigena* okozta gyümölcsrothadás elleni permetezések éves számát 15-25%-kal csökkentette ökológiai almaültetvényekben a hagyományosan alkalmazott védekezési programokhoz képest.
- A csökkentett permetezési programok hatékonyságát vizsgáltuk az alma 3 jelentős gombakórokozója ellen és megállapítottuk, hogy a tenyészidő második felében végzett permetezésszám csökkentésnek az integrált termesztésben lehet gyakorlati alkalmazási lehetősége, ugyanakkor az ökológiai termesztésben a nagy fertőzöttségi értékek miatt a növényvédelmi kezelések elhagyása nem javasolt.
- A *M. laxa* izolátumok fungicid-rezisztencia vizsgálata során öt hatóanyag (tiofanát-metil, kaptán, penkonazol, miklobutanil, mankoceb) hatékonysága 100%-os volt valamennyi izolátum esetében, míg a boscalid+piraclostrobin, elemi kén, ciprodinil, fenhexamid és prokloráz hatóanyagok esetén az izolátumok jelentősen eltérő érzékenységet/ellenállóságot mutattak.

5. GYAKORLATBAN ALKALMAZHATÓ EREDMÉNYEK

- Az általunk kidolgozott előrejelzési és védekezési rendszer (GEVS) a *M. fructigena* okozta gyümölcsrothadás elleni permetezések éves számát 15-25 %-kal csökkentette, mellyel költséghatékonyabb termesztés valósítható meg.
- Csökkentett permetezési programok hatását vizsgálva egyértelműen megállapítható, hogy a fungicid kezelések számát csak az integrált termesztésben csökkenthetjük biztonságosan, ugyanakkor az ökológiai termesztésben a nagy fertőzöttségi értékek miatt a növényvédelmi kezelések elhagyása nem javasolt.
- Fungicid-rezisztencia vizsgálataink során megállapítottuk, hogy a vizsgált tíz hatóanyag közül öt (tiofanát-metil, kaptán, penkonazol, miklobutanil, mankoceb) a gyakorlatban is teljes biztonsággal alkalmazható, mivel ezek 100 %-ban gátolták az izolátumok növekedését. A másik öt hatóanyag esetében azonban az izolátumok eltérő érzékenységet mutattak, ezért ezek gyakorlati alkalmazása nem javasolt, mivel az a rezisztencia kialakulás kockázatával jár.

6. A TÉZISFÜZET HIVATKOZÁSAI

- Anon: 1997. Biotermékek előállításának és minősítésének feltételrendszere. [Processing and qualifying organic products.] Budapest: Biokultúra Egyesület. In Hungarian.
- Anon: 2000. Basic standards for organic production and processing. New York: Tholey-Theley.
- Cekic, C., Battey, M. H. and Wilkinson, M. J.: 2001. The potential of ISSR-PCR primer-pair combinations for genetic linkage analysis using the seasonal flowering locus in *Fragaria* as a model. *Theoretical and Applied Genetics* 103: 540–546.
- Cote, M. J., Tardif, M. C. and Meldrum, A. J.: 2004. Identification of *Monilinia fructigena*, *Monilinia fructicola*, *Monilinia laxa* and *Monilia polystroma* on inoculated and naturally infected fruit using multiplex PCR. *Plant Disease* 99 (11): 1219–1225.
- Fan, J. Y., Guo, L. Y., Xu, J. P., Luo, Y. and Michailides, T. J.: 2009. Genetic diversity of populations of *Monilinia fructicola* (Fungi, Ascomycota, Helotiales) from China. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 1–7.
- Gell, I., Larena, I., and Melgarejo, P.: 2007. Genetic diversity in *Monilinia laxa* populations in peach orchards in Spain. *Journal of Phytopathology* 155: 549–556.
- Groppe, K., Sanders, I., Wiemken, A. and Boller, T.: 1995. A microsatellite marker for studying the ecology and diversity of fungal endophytes (*Epichlœe* spp.) in grasses. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 3943–3949.
- Holb, I. J.: 2008. Monitoring conidial density of *Monilinia fructigena* in the air in relation to brown rot development in integrated and organic apple orchards. *European Journal of Plant Pathology* 120: 397–408.
- Holb, I. J. and Scherm, H.: 2007. Temporal dynamics of brown rot in different apple management systems and importance of dropped fruit for disease development. *Phytopathology* 97: 10004–1111.
- Holb, I. J. and Scherm, H.: 2008. Quantitative relationships between different injury factors and development of brown rot caused by *Monilinia fructigena* in integrated and organic apple orchards. *Phytopathology* 98: 79–86.
- Ios, R. and Frey, P.: 2000. Genomic variation within *Monilinia laxa*, *M. fructigena* and *M. fructicola*, and application to species identification by PCR. EPPO Conferences on diagnostic techniques for plant pests, 1–4 February 2000, Wageningen, the Netherlands, 52. (Abstract).
- Lim, S., Notley-McRobb, L., Lim, M. and Carter, D. A.: 2004. A comparison of nature and abundance of microsatellite in 14 fungal genomes. *Fungal Genetics and Biology* 41:1025–1036.
- Nei, M.: 1975. Molecular Population Genetics and Evolution. New York, USA, American Elsevier: 175 pp.
- Nei, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics New York, NY, USA, Columbia University Press, 187 pp.
- Petróczy M.: 2009. A *Monilinia fructicola* és a *Monilia polystroma* megjelenése Magyarországon és a védekezés újabb lehetősége (doktori értekezés). Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar 180 pp.
- Van Leeuwen, G. C. M., Stein, A., Holb, I. J. and Jeger, M. J.: 2000. Yield loss caused by *Monilinia fructigena* (Aderh. & Ruhl.) Honey, and spatio-temporal dynamics of disease development. *European Journal of Plant Pathology* 106: 519–528.
- Van Leeuwen, G. C. M., Holb, I. J. and Jeger, M. J.: 2002. Factors affecting mummification and sporulation of pome fruit infected by *Monilinia fructigena* in Dutch orchards. *Plant Pathology* 51: 787–793.

Villarino, M., Larena, I., Martinez, F., Melgarejo, P. and De Cal, A.: 2011. Analysis of genetic diversity in *Monilinia fructicola* from the Ebro Valley in Spain using ISSR and RAPD markers. *European Journal of Plant Pathology*. volume 132, number 4. 511-522(14).

Wright, S.: 1951. The genetical structure of populations. *Annals Eugenics* 15: 323–354.

Xu, X. M., Robinson, J. D., Berrie, A. M. and Harris, D. C.: 2001. Spatio-temporal dynamics of brown rot (*Monilinia fructigena*) on apple and pear. *Plant Pathology* 50: 569-578.

Garcia-Vallvé, S. and Puigbo, P. 2002. DendroUPGMA: A dendrogram construction utility. Universitat Rovira i Virgili (URV). Tarragona. Spain
<http://genomes.urv.cat/UPGMA/index.php?entrada=Example3>

Anon: <http://www.gelanalyzer.com>

7. MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK



DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR
PUBLIKÁCIÓK



Iktatószám: DEENKÉTK/194/2014.
Tételszám:
Tárgy: Ph.D. Publikációs Lista

Jelölt: Fazekas Mónika
Neptun kód: NXKPNG
Doktori Iskola: Kerpely Kálmán Növénytermesztési- és Kertészeti
Tudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Magyar nyelvű tudományos közlemény(ek) hazai folyóiratban (3)

1. **Fazekas M.**, Abonyi F., Balla B., Lakatos P., Holb I.: Előzetes vizsgálatok a *Venturia inaequalis* populációk in vitro érzékenységre egyes fungicid-hatóanyagokkal szemben.
Agrártud. közl. - 50, 165-168, 2012. ISSN: 1587-1282.
2. **Fazekas M.**, Szalóki S., Madar A., Miklós I., Sipiczki M., Holb I.: Néhány hazai *Monilinia* faj azonosítása és biológiai vizsgálata.
Agrártud. közl. 46, 27-29, 2012. ISSN: 1587-1282.
3. Balla B., **Fazekas M.**, Lakatos P., Abonyi F., Holb I.: Csökkentett permetezési programok hatása az alma jelentősebb gombakórokozóra környezetkímélő termesztési rendszerekben.
Agrártud. Közl. 42, 13-16, 2010. ISSN: 1587-1282.

Idegen nyelvű tudományos közlemény(ek) külföldi folyóiratban (6)

4. **Fazekas, M.**, Madar, A., Sipiczki, M., Miklós, I., Holb, I.J.: Genetic diversity in *Monilinia laxa* populations in stone fruit species in Hungary.
World J. Microbiol. Biotechnol. 30 (6), 1879-1892, 2014. ISSN: 0959-3993
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-014-1613-4>
IF:1.353 (2013)
5. Holb, I.J., **Fazekas, M.**, Abonyi, F.: In vitro sensitivity of *Monilinia laxa* to fungicides approved in integrated and organic production systems.
Int. J. Hort. Sci. 17 (4-5), 59-62, 2011. ISSN: 1585-0404.



Cím: 4032 Debrecen, Egyetem tér 1. □ Postacím: 4010 Debrecen, Pf. 45. □ Tel.: (52) 518-600
E-mail publikaciok@lib.unideb.hu □ Honlap: lib.unideb.hu



6. Holb, I.J., Balla, B., Abonyi, F., **Fazekas, M.**, Lakatos, P., Gáll, J.M.: Development and evaluation of a model for management of brown rot in organic apple orchards.
Eur. j. plant pathol. 129 (3), 469-483, 2011. ISSN: 0929-1873.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10658-010-9710-1>
IF:1.413
7. Holb, I.J., **Fazekas, M.**, Lakatos, P., Balla, B., Gáll, J.: Possibilities of blossom and twig blight management in organic stone fruit production.
Int. J. Hortic. Sci. 16 (3), 103-105, 2010. ISSN: 1585-0404.
8. **Fazekas, M.**, Abonyi, F., Madar, A., Lakatos, P., Gáll, J., Holb, I.: Some aspects of reduced disease management against *Monilinia* spp. In sour cherry production.
Int. J. Hortic. Sci. 16 (1), 51-53, 2010. ISSN: 1585-0404.
9. Holb, I.J., **Fazekas, M.**, Abonyi, F., Lakatos, P., Thurzó, S., Nyéki, J., Szabó, Z., Kruppa, J., Balla, B.: Effect of reduced spray programmes on incidences of apple scab, powdery mildew and codling moth damage in environmentally friendly apple production systems.
Int. J. Hortic. Sci. 15 (4), 75-78, 2009. ISSN: 1585-0404.

Magyar nyelvű konferencia közlemény(ek) (1)

10. Madar A., **Fazekas M.**, Miklós I., Sipiczki M., Abonyi F., Lakatos P., Balla B., Holb I.: *Monilinia laxa* izolátumok ISSR-markeren alapuló polimorfizmus vizsgálata.
In: IX. Magyar Genetikai Kongresszus és, XVI. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok : Siófok ..., 2011. március 25-27. : program, összefoglalók. Szerk.: ... Hohol Róbert ; rend. a Magyar Genetikusok Egyesülete és a Magyar Biológiai Társaság Sejt- és Fejlődésbiológiai Szakosztálya, Diamond Congress Kft., Budapest, 182, [2011]. ISBN: 9789638801944

Idegen nyelvű konferencia közlemény(ek) (3)

11. Madar, A., **Fazekas, M.**, Sipiczki, M., Miklós, I., Holb, I.J.: Genetic diversity of *Monilinia laxa* populations from three geographic areas of Hungary.
Acta Microbiol. Immunol. Hung. 60 (Suppl.), 48, 2013. ISSN: 1217-8950.





12. Madar, A., **Fazekas, M.**, Miklós, I., Sipiczki, M., Abonyi, F., Lakatos, P., Balla, B., Holb, I.J.: Are ITS sequences suitable for detecting interspecific polymorphism of *Monilinia laxa*?
In: A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2010. évi Nagygyűlése : Absztraktfüzet. Közread.: Magyar Mikrobiológiai Társaság és a MMT Alapítványa, Magyar Mikrobiológiai Társaság és a MMT Alapítványa, Keszthely, 57-58, 2011.
13. **Fazekas, M.**, Madar, A., Sipiczki, M., Miklós, I., Abonyi, F., Lakatos, P., Balla, B., Holb, I.: Genetic diversity of *Monilinia fructigena* population from Hungary.
Acta Microbiol. Immunol. Hung. 58 (Suppl. 1), 26, 2011. ISSN: 1217-8950.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/AMicr.58.2011.Suppl.1>

A kutatási témához közvetlenül nem kapcsolódó publikációk

Idegen nyelvű közlemény(ek) külföldi folyóiratban (1)

14. Holb, I., Fodor, B., Lakatos, P., Balla, B., **Fazekas, M.**, Gáll, J.: Effect of production system and pruning on *Aphis sambuci* dynamics over time and on elderberry yield.
J. Appl. Entomol. 134, 615-625, 2010. ISSN: 0931-2048.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0418.2010.01511.x>
IF:1.276

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 4,042

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre):
2,766

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

Debrecen, 2014.08.15.

