

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

***Botrytis cinerea* populációk vizsgálata az
Egri borvidéken**

**Examination of *Botrytis cinerea* populations in
Eger wine region**

Váczy Kálmán Zoltán

Témavezetők:

Dr. Karaffa Levente

Dr. Sándor Erzsébet



DEBRECENI EGYETEM
Juhász Nagy Pál Doktori Iskola
Debrecen, 2009

1. Bevezetés

A *Botrytis* nemzetség előfordulása nagyobb részt a mérsékelt övre korlátozódik és ott nagyszámú, több mint 200 gazdanövény fajt képes megtámadni, és rajtuk a szürkerothadás nevű megbetegedést kiváltani. A termesztett növények olyan fontos csoportjai veszélyeztetettek, mint a szántóföldi és üvegházi kultúrák, bogyós gyümölcsök, szőlő, dísnövények és facsemeték. Sok egyéb növény és kultúra is veszélyeztetett, azonban kevésbé számottevő gazdasági jelentőségük miatt nem kerülnek a figyelem középpontjába. A nemzetség tagjait, mint tárolási betegséget okozó mikroorganizmusokat is számon tartjuk, mivel hidegtűrő képességük miatt jelentős problémákat okozhatnak a termékek raktározása és szállítmányozása során.

A megbetegedések megelőzésének és kezelésének több útja és lehetősége is van, de a védelem megvalósítása általában nem egyszerű feladat. A nehézségek gyakran a gomba életciklusából erednek, a spóracsírázás, a fertőzés, a micélium növekedés és a sporuláció gyorsan történik a nemzetség legtöbb tagjánál. A védekezés nehézkes, mivel a gomba különböző populációi eltérő módon tolerálják a különböző fungicideket, más esetben a betegség az érési idő előtt vagy alatt jelenik meg, ami tovább nehezíti, vagy lehetetlenné teszi a kémiai védekezést.

A szürkerothadás kórokozója, a *Botrytis cinerea* (teleomorf: *Botryotinia fuckeliana*) gombafaj nagyon változatos megjelenésű, és genotípusában is nagy változékonyságot mutat. A modern növénykórtan kiemelt

figyelmet fordít a patogén gombapopulációk genetikai szerkezetének megismerésére, hogy ezen információk megismerése révén alakíthassák ki, illetve egészíthessék ki a védekezés stratégiáját.

2. Célkitűzések

A dolgozatban bemutatott – korántsem befejezett – kutatásaink célja, hogy választ keressünk azokra a kérdésekre, melyek mind a tudományos közélet, mind a mindennapi szőlőművelésbeni, növényvédelmi és borászati gyakorlatban felmerülhet. A gyakorlatban felmerülő kérdések megválaszolásához azonban először az elméleti alapokat, jelen esetben az Egri borvidéken előforduló *B. cinerea* populációk genetikai diverzitását kell megvizsgálunk és ezen keresztül a következő kérdésekre választ kapunk:

1. Genetikailag milyen módon épül fel az Egri borvidék a *B. cinerea* állománya, ha többféle populáció létezik, akkor milyen fenotípusos és genotípusos különbségek vannak közöttük?

2. Vannak vagy lehetnek-e speciális az Egri Borvidékre jellemző markerek vagy szekvenciák?

3. Milyen genetikai markerek alkalmasak a *B. cinerea* populációk vizsgálatára?

4. Milyen módon (szexuális illetve klonális) szaporodnak az egyes populációk?

5. Van vagy lehet-e földrajzi alapú különbség a borvidék populációi között?

6. Van-e összefüggés a fungicid rezisztencia és a vizsgált genetikai paraméterek között?

3. Anyag és módszer

Különböző szőlőtermő területekről 2003 és 2006 között gyűjtöttünk *B. cinerea*-val fertőzött fürt-részleteket és szőlőbogyókat, júliustól novemberig terjedő időszakban. Az izolálás első lépéseként spóraszórással bengál-rózsa szelektív táptalajra, majd monospórás tenyészetként a növesztéshez szükséges burgonya-dextróz agarra helyeztük az izolátumokat.

A genom vizsgálatához micéliumból nyertük ki a DNS-t. A sejtek feltárása apró kerámiagolyókat alkalmazó, nagy teljesítményű, mechanikus sejtfeltáró készülék segítségével (MagNaLyser, Roche) történt. Az extrakcióhoz kereskedelmi forgalomban kapható DNS izoláló kit-et (DNEasy Plant Mini Kit, Qiagen) használtunk, a gyártó leírása szerint.

A DNS fragmentumok amplifikációja és detektálása hagyományos módon, specifikus primerek használatával történt. A transzpozonok detektálását PCR és dot blot módszerrel végeztük.

Szekvenálás előtt a mintákat Microcon YM-100 oszlopon (Millipore) tisztítottuk a gyártó utasításai szerint, majd a megfelelő mennyiséget beszáritva juttattuk el szekvenáltatni. Az izolált DNS minták szekvenálását az MWG Biotech AG. (Erdberg, Németország) végezte.

A DNS szekvenciák illesztését a Clustal X. 1.81 programmal, majd azt követően a Genedoc 2.6 programmal végeztük. Az elemzésekhez és számításokhoz PAUP 4.0 B10 filogenetikai programcsomagot használtunk. A törzsfák készítéséhez heurisztikus keresést alkalmaztunk. Az így kapott törzsfák egyes elágazásainak valószínűségét bootstrap analízissel teszteltük.

A mikroszatellit szekvenciák felszaporítása specifikus jelölt primerekkel, vizsgálatuk pedig fragment analízis automatizált szekvenáló berendezés (ABI PRISM® 310 Genetic Analyser) segítségével történt.

A molekuláris filogenetikai elemzésekhez a MEGA 3.1, a PhyML és a Mr. Bayes v3.0B4 programokat használtuk. A későbbiekben a MODELTEST v.3.06 internetes oldal online szolgáltatását használtuk a legvalószínűbb nukleotid szubsztitúciós modell kiválasztására, AIC (Akaike Information Criterion) kimeneti stratégiát alkalmazva.

A haplotípus kapcsolatok felderítésére a szekvenciákat DNASp programmal elemeztük. Minden haplotípus egy-egy szekvenciáját illesztettük és NEXUS formátumba konvertálva parsimony analízis segítségével vizsgáltuk a fennálló kapcsolatokat. Az adatok elemzésére a TCSv. 2.11 program segítségével vettük igénybe.

Az asszociációs index vizsgálatokat a kapcsoltsági egyensúlytalanság analízis segítségével végeztük, amely az MLST internetes oldalon elérhető vizsgálati módszer. A szignifikanciát 1,000-tól becsültük az adatok random permutációja alapján.

A Maximum Chisquare és Phi teszt végrehajtását a SplitsTree v. 3.8 program segítségével végeztük.

A fungicid-rezisztencia vizsgálatokat különböző növényvédőszer mennyiségeket tartalmazó agar lemezekon vizsgáltuk az EC₅₀ érték számításával.

4. Eredmények bemutatása

A *Botrytis cinerea* két filogenetikai csoportba sorolható. Vizsgálataink során egyértelműen bizonyítható volt, hogy minden egyes izolátum a II. filogenetikai csoportba tartozik, transzpozon összetétele pedig eltér az irodalomban leírtaktól. Az izolátumok többsége a transposa csoportba sorolható (67.8%), a vacuma izolátumok ugyanolyan arányban voltak jelen (9.1%), mint azon izolátumok, amelyek csak *Boty* (11%) vagy csak *Flipper* (11.9%) transzpozon elemet tartalmaztak. Az a tény, hogy a *B. cinerea* II. csoportban előfordulnak olyan izolátumok, amelyek csak *Flipper* vagy csak *Boty* transzpozont tartalmaznak, rávilágít arra, hogy a transzpozonok jelenléte vagy hiánya olyan jellegzetesség, amely nem használható fel a *B. cinerea* egyértelmű rendszerezésében.

Az egri izolátumok MSB1 miniszatellit tartalmukat tekintve szintén nagy variabilitást mutatnak. A miniszatellit felépítő variánsok közel fele újonnan azonosított variáns, melyek általában csak egy-egy pontmutációban térnek el egymástól, illetve csak néhány izolátumban vannak jelen, feltételezve ezáltal, hogy helyben kialakult mutáció révén jöttek létre.

Kísérleteink során különböző genetikai markereket (MSB1, *tef1*, *tub1*) használtunk a populációk jellemzésére. Ezek önmagukban azonban nem nyújtottak elegendő genetikai információt, mikroszatellit markerekkel (Bc2, Bc3, Bc6, Bc7, Bc10) együttesen elemezve viszont eredményesen használhatóak voltak az izolátumok jellemzésére. Vizsgálatuk során igen magas fokú kapcsoltsági egyensúlytalanságot tapasztalhattunk mely adatok a szekvencia és mikroszatellit vizsgálatokkal együtt elegendő információt nyújtanak ahhoz, hogy a rekombináció lehetőségéről alkotott következtetéseink helytállóak legyenek. Az asszociációs index teszt eredményei azonban ennek ellenére is sejtetik a klonalitás jelenlétét. A fixációs index hasonló vizsgálata kimutatta, hogy a *vacuma* populációk csakugyan mutatnak némi differenciálódást mind a flipper, mind a transposa populációktól, amit magyarázhatnak ezek az eredmények. Ugyancsak észleltünk – bár igen mérsékelt differenciációt – a földrajzilag különböző helyekről származó populációk között.

A fungicid-rezisztencia vizsgálatok során az irodalmi adatoknak megfelelően mindhárom vizsgált vegyszer esetében tapasztalhattuk a rezisztencia jelenlétét az izolátumok között. Azonban különösen elgondolkodtató, illetve további vizsgálatokat szorgalmaz az az eredmény, miszerint a már régóta nem használt benzimidazol esetében (Benomyl, Du Pont) esetében még mindig viszonylag nagy volt a magas és közepes rezisztenciával rendelkező izolátumok aránya, míg a még nem régóta használt fenhexamid (Teldor, Bayer) esetében pedig a közepes szintű fungicid-rezisztencia jelenléte volt nagy arányú.

Az Egri borvidékről származó izolátumok vizsgálata alapján eredményeink bizonyítják a rekombináció szignifikáns jelenlétét és kihangsúlyozzák a szignifikáns genetikai variabilitást a *B. cinerea* populációk között. A nagy genetikai variabilitás, valamint a szexuális reprodukció egyértelmű magyarázat arra, hogy miért alakul ki olyan gyorsan és könnyen rezisztencia a különböző, *B. cinerea*-val szemben alkalmazott fungicidek ellen.

5. Új tudományos eredmények

1. Vizsgálataink során kimutattuk, hogy az Egri Borvidéken csak II. filogenetikai csoportba tartozó izolátumok fordulnak elő, melyeknek transzpozon tartalma az irodalmi adatoktól eltérő. A flipper és a boty genotípus is viszonylag gyakran előfordult, PCR alapú megbízható detektálásukat ugyanakkor vizsgálataink nem igazolták.
2. Az MSB1 miniszatellit allélok vizsgálata során nagy mennyiségű, eddig csak az Egri Borvidéken előforduló új szekvencia sorrendel rendelkező miniszatellit variánst (MVR) azonosítottunk (a variánsok közel fele). Ezek azonban kevés izolátumban fordultak elő, valószínűsítve, hogy helyben kialakult mutáció révén jöttek létre, ugyanakkor ezáltal alkalmasak a származási hely becslésére, melynek lehetőségét elsőként vetettük fel ezen genetikai marker esetében.

3. Vizsgálatainkkal elsőként mutattuk ki, hogy a *B. cinerea* genetikai jellemzésére alkalmazható genetikai markerek alacsony genetikai variabilitásuk miatt önmagukban nem elegendőek a populációk egyértelmű jellemzésére, ill. megkülönböztetésére. Több lókuszt is a haplotípusok között fennálló kapcsolatok csekély mértékű hierarchiáját mutatta, melyet statisztikai vizsgálatok is megerősítettek.
4. Kísérleteink során elsőként bizonyítottuk, hogy a mikroszatellitek és a multilókuszos genotípusok asszociációs indexel történő vizsgálata alapján az egri *B. cinerea* izolátumok populációi képesek a szexuális reprodukcióra.
5. Vizsgálataink alapján bizonyítottnak tekinthető, hogy az Egri borvidék különböző földrajzi helyeiről származó populációk között nincs, vagy nagyon alacsony mértékű a fixáció, földrajzi alapú elkülönülés nem tapasztalható.
6. A fungicid-rezisztencia és a vizsgált genetikai paraméterek között szoros összefüggést nem találtunk.

6. Eredmények hasznosítása

A nagy genetikai variabilitás, valamint a szexuális reprodukció egyértelmű magyarázat arra, hogy miért alakul ki olyan gyorsan és könnyen rezisztencia a különböző, *B. cinerea*-val szemben alkalmazott fungicidek ellen. Az egyoldalú és okszerűtlen

szerhasználat következtében ugyanis mindenképpen számítani kell rezisztens törzsek megjelenésére és elterjedésére. Vizsgálataink ezt megerősítették, illetve ugyanilyen tendencia kialakulását mutatták a *B. cinerea* ellen jelenleg használt fungicidek esetében is. A populációk struktúrájának és rezisztencia biológiai viszonyainak alapos megismerése segítséget nyújthat a megfelelő és hatékony növényvédelmi technológia kifejlesztéséhez, szertakarékos és környezetkímélő növényvédelem megvalósításához.

1. Introduction

Botrytis cinerea (anamorph of *Botryotinia fuckeliana*) is a haploid, filamentous ascomycete that causes grey mould on many economically important crops such as fruits, especially grapevine, vegetables, as well as ornamentals, in temperate regions. Several other cultures are also endangered, but due to their low economical importance they are not studied thoroughly. The members of the genus also play an important role in storage diseases, because of their cold tolerance, so they cause heavy problems in storage and in transportation too.

The prevention and the attendance of diseases has several ways and possibilities, but the complete protection can barely be feasible. The main difficulties in general rise from the life cycle of fungi: the spore germination, the infection, the mycelium growing and the sporulation happens rapidly in the most member of the genus. The protection is difficult, because the fungicide tolerance varies in different populations. In other cases the disease appears before or under maturity, when the chemical protection is difficult or impossible.

The causative agent of grey mould, the *Botrytis cinerea* is systematic and important pathogen of many plant cultures also. Its appearance and genotype is very variable. The modern plant pathology has a great respect for cognition of genetic structure of plant pathogen fungal populations, for shaping and developing protection strategies.

2. Objectives

The aims of our work were to answer scientific and practical questions which occur in grape production, plant protection and in oenology. The analysis of theoretical basics, namely the genetic diversity of *B. cinerea* populations have to answered before dealing with practical questions. The most important questions that our research work intended to answer are as follows:

1. Are the *B. cinerea* populations genetically homogeneous or diverse in the Eger wine region? If they are inhomogenous, what kind of phenotypic and genotypic differences can be identified?
2. Is it possible to find special markers or sequences which are unique for the *B. cinerea* populations in Eger wine region?
3. What types of genetic markers can be used for the characterization of the *B. cinerea* populations?
4. Sexual or clonal reproduction is preferred in the studied *B. cinerea* populations?
5. Are there geographical differences between the populations in Eger wine region?
6. Are there correlation between the fungicide resistances and the examined genetic parameters?

3. Materials and methods

Strains of *B. cinerea* were collected from vineyards in various locations of the wine region, between 2003 and 2006. They were isolated from infected berries. Single-spore isolates were prepared from each strain and maintained on potato dextrose agar.

DNA was extracted from aerial mycelium of *B. cinerea* strains grown on PDA medium Magnalyser (Roche, Osterode, Germany) was used for the disruption of fungal cells, and DNA was isolated with the Plant DNA Purification Kit (Qiagen, Hilden, Germany).

Detection of transposable elements Boty and Flipper was done by PCR and dot blot method.

PCR amplification and sequencing of single copy genes was done by conventional methods.

Purified PCR products were subjected to automatic sequencing at MWG-Biotech AG, Ebersberg, Germany.

DNA sequences were aligned first with Clustal X 1.81 and then visually adjusted with Genedoc 2.6. Molecular phylogenies were analyzed with MEGA 3.1, PhyML (provided online by PHYML), and Mr. Bayes version 3.0B4. For the latter, MODELTEST 3-06 was used to compare the likelihood of different nested models of DNA substitution and select the best-fit model for the investigated data set using Akaike information criterion (AIC) output strategies.

For construction of haplotype networks, sequences were collapsed to haplotypes with DNASp. Sequences, one per each haplotype, were aligned and converted to a NEXUS file, and the networks computed by statistical parsimony analysis as implemented in TCS version 2.11.

Microsatellite amplification was done by fluorescently labeled primers and the fragment analysis was performed in an automated single-capillary genetic analyzer (ABI PRISM 310 Genetic Analyzer).

Recombination within *B. cinerea* isolates was tested by (i) the index of association (IA) test, which measures whether the alleles from the different loci in a population are randomly or nonrandomly associated in the analyzed genomes, and which was computed with the linkage disequilibrium analysis available on the MLST website (published online by Multi Locus Sequence Typing), and significance was gauged from 1,000 random permutations of the data; (ii) the maximum chi-square test, with the modification that all expected >2 are considered; and (iii) the phi test as implemented in SplitsTree version 3.8.

Computation of the fixation index (F_{ST}) as a measure of population differentiation was done with POPGENE32 version 1.31 and by calculating G_{ST} , which is equal to the weighted average of F_{ST} for all multiple alleles.

Fungicide resistance examinations were done by classical methods with fungicide added agar plates, with calculation of EC_{50} number.

4. Scientific results

Our experimental results unequivocally prove that *B. cinerea* isolates consist entirely of phylogenetic group II. The determined transposon pattern shows that the majority of isolates (67.8%) contained both Flipper and Boty transposons. However, some of the isolates contained only Flipper (11.9%), or only Boty (11%), in

same proportion respectively. Ten isolates (9.1%) were vacuma, i.e. they contained neither transposon. The results show that the *B. cinerea* populations in the Eger wine grape growing exhibit an unusual transposon composition; while the majority of isolates indeed were transposa, vacuma isolates were present in about the same percentage as isolates containing only Boty or only Flipper. In any case, the evidence from our data, i.e., that *B. cinerea* group II also contains isolates which only contain Flipper or Boty, further underlines that the presence or absence of either transposon is not a valid character for speciation in *B. cinerea*. The isolates show high diversity in MSB1 minisatellite contents also. Almost moiety of minisatellite variant repeats were newly referred variants, which were occurred ordinarily just in few sample, supposed that was evolved by local mutation.

In the course of our experiments the individual genetic markers (MSB1, *tef1*, *tub1*) in themselves are not present enough genetic information, but all of them completed with microsatellite (Bc2, Bc3, Bc6, Bc7, Bc10) markers are suited for genetic analysis of isolates. In the score of our examination a very high degree of linkage disequilibrium was shown both by analyses of gene sequences as well as of microsatellites, which minimizes a potential bias. However, the Association Index test also suggested an element of clonality. A corresponding analysis of the fixation index revealed that indeed the vacuma population exhibited some differentiation from both the Flipper and the transposa populations, which may explain these results. We could

also detect some (albeit very moderate) differentiation between some geographic populations.

In the course of fungicide resistance examinations, different resistance levels were found in isolates against all of three tested fungicides. It is especially interesting, and the fact indicates further examinations, that in case of for long time did not used fungicide like benomyl we found a great number of resistant isolates and in case of examination a relative new fungicide (in the time of examination), fenhexamide we found a great number of medium resistant isolates.

In summary, our data underline a significant genetic variability within populations and consistently indicates that the population of *B. cinerea* in the Eger wine region undergoes sexual reproduction. The complexity and variability of this fungus make it difficult to control, thus the high genetical variability and the sexual reproduction is an unambiguous answer for evolving of rapidly and easily fungicide resistance among isolations against fungicides.

5. New scientific results

1. In the course of our examinations were proved unequivocally that *B. cinerea* isolates from Eger wine district consisted entirely of phylogenetic group II. The occurrence of transposons was different from literature data: there were more *flipper* and *boty* type isolates and the duplex PCR reaction was not a stable method for transposon detection.

2. In the course of our examinations almost moiety of minisatellite variant repeats were newly referred variants, which were occurred ordinarily just in few samples, supposed that was evolved by local mutation.
3. The investigated genetic markers in themselves did not give enough genetic information, but all of them completed with microsatellite markers were suited for genetic analysis of isolates. More loci showed just a little hierarchy between haplotypes. That was confirmed by statistical examinations also.
4. Examination of microsateles and multilocus genotypes with Association Index showed that *B. cinerea* populations form Eger wine district were capable for sexual reproduction.
5. In *B. cinerea* populations from different geographical areas the fixation index was very low.
6. It was not found any connections between fungicide resistance and examined genetic markers.

6. Results in practical use

The high genetic variability and the existence sexual reproduction unambiguously explain why the resistance against fungicides is growing so quickly and easily in *B. cinerea* populations. The effect of unilateral and inefficient fungicide using eventuate appearing and spreading of resistant isolates. Our examinations affirmed

that fact as well as shown the same tendency in the usage of fungicides against *B. cinerea* nowadays. The deep cognitions of the population structure and biological relations of fungicide resistance would give help to develop a more suitable and effective plant protection technology and attainment of an environment friendly plant protection by using less fungicide.

7. A témával kapcsolatos publikációk

A dolgozat alapjául szolgáló publikációk:

1) **Váczy K. Z.**, Sándor E., Karaffa L., Fekete E., Fekete É. Árnayasi M., Czeglédi L., Kövics Gy., Druzhinina I., Kubicek C. P. (2008): Sexual recombination in the *Botrytis cinerea* populations in Hungarian vineyards. *Phytopathology* 98:1312-1319. **I.F.: 2,378**

2) **Váczy K. Z.**, Karaffa L., Kövics Gy.J., Sándor E. (2007): Szürkerothadást okozó *Botrytis cinerea* populációk jellemzése miniszatellit szekvencia vizsgálatával. (Characterization of causal agent of grey mould disease, *Botrytis cinerea* populations by minisatellite sequency. *Növényvédelem* 43 (2): 57-61.

További referált közlemények:

1) Karaffa, L. **Váczy, K.**, Sándor, E., Biró, S., Szentirmai, A., Pócsi, I. (2000): Cyanide-resistant alternative respiration is strictly correlated to intracellular peroxide levels in *Acremonium chrysogenum*. *Free Radical Research*, **34**:406-416 . **I.F.: 2,468**

2) **Váczy K. Z.**, Karaffa L, Fekete E, Kövics Gy, Gál L, Sándor E (2006): Distribution of transposons in *Botrytis cinerea* isolates collected from the wine regions of Eger and Tokaj, Hungary. *4rd International Plant Protection Symposium, Proceedings* pp. 69-71.

3) Sándor E., **Váczy K.**, Kövics Gy., Karaffa L. (2005): Az Egri borvidék *Botrytis cinerea* populációinak genetikai jellemzése. 10. Tiszántúli Növényvédelmi Fórum, Debrecen. Proceedings pp. 299-308

4) El-Naggar, M., Kövics, G. J., **Váczy, K. Z.**, Karaffa, E. (2008): Pyrimethanil tolerance of *Botrytis cinerea* isolates from Egypt and Hungary. 10. Tiszántúli Növényvédelmi Fórum, Debrecen. Proceedings pp. 98-107.

Idegennyelvű összefoglalók:

1) **Váczy K. Z.**, Karaffa L., Váczy Zs., Gál L., Sándor E. (2008): Characterisation of minisatellite sequences from *Botrytis cinerea* populations in The Tokaj wine district. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* **55**: 256-257.

2) Sándor E., **Váczy K.Z.** (2008): *Botrytis cinerea* populations in Hungary consist of the group II phylogenetic species with a high loss of the transposon Boty. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* **55**: 242.

3) Szilágyi Z., **Váczy K. Z.**, Gál L. (2007): Application of RT-PCR and GC-MS methods for detection of wine spoilage by *Bretanomyces* 3th International Symposium on Recent Advances in Food Analysis. Prague, Czech Republic. Book of Abstracts pp. 310.

- 4) **Váczy K. Z.**, Karaffa L., Kövics Gy. J., Gál L., Sándor E. (2007): Genetic characterisation of *Botrytis cinerea* populations in the Eger wine district *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* **54**: 137-138.
- 5) **Váczy K. Z.**, Karaffa L., Kövics Gy. J., Gál L., Sándor E. (2006): Comparative characterisation of minisatellite sequences from *Botrytis cinerea* populations in the Eger and Tokaj wine regions. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* **53**: 355-356.
- 6) Szilágyi, Z., **Váczy, K. Z.**, Szabó, P. T. (2006): Investigation of metabolite diversity of genetically different *Botrytis cinerea* fungal isolates by HPLC and LC-MS techniques. 17th International Mass Spectrometry Conference. Prague, Czech Republic. Abstract Book pp. 214
- 7) **Váczy K. Z.**, Karaffa L., Kövics Gy. J., Gál L., Rudó N., Sándor E. (2006): Transposon elements and mycelial compatibility groups of *Botrytis cinerea* in the Eger and Tokaj wine regions. 8th European Conference on Fungal Genetics. Vienna Book of Abstracts pp. 431.
- 8) **Váczy K. Z.**, Druzhinina I. S., Kubicek Ch. P., Karaffa L., Gál L., Kövics Gy. J., Sándor E. (2006): Analysis of *Botrytis cinerea* populations in the Eger and Tokaj wine regions - a multiloci approach. 8th European Conference on Fungal Genetics. Vienna Book of Abstracts pp. 413.

9) Sándor E., Váczy K., Druzhinina, I., Kubicek, C. P., Kövics Gy. J., Karaffa L (2005): Genetic characterization of grape-infecting *Botrytis cinerea* populations from the Eger wine region, Hungary. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* **52**: 135-136.

10) Váczy K.Z., Gál L., Karaffa L., Kövics Gy., Sándor E. (2005): Genetic characterization of *Botrytis cinerea* isolates of Eger and Tokaj wine regions. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* **52**: 167-168.

11) Karaffa, L., Váczy, K., Sándor, E., Pócsi, I., Szentirmai, A. (1999): Connection between the cyanid-resistant alternative respiration and the peroxide levels in *Acremonium chrisogenum*. *Acta Microbiologica et immunologica Hungarica*. **46**:339-340.

Magyar nyelvű összefoglalók:

1) Váczy K., Karaffa L., Sándor E. (2009): *Botrytis cinerea* populációk vizsgálata az Egri borvidéken. 55. Növényvédelmi Tudományos Napok, Budapest. Proceeding book: pp 38.

2) Váczy K., Váczy Zs., Kaptás T., Sándor E. (2009): *Botrytis cinerea* izolátumok dikarboximid és hidroxianilid rezisztenciájának alakulása magyarországi borvidékeken. 55. Növényvédelmi Tudományos Napok, Budapest. Proceeding book: pp 79.

- 3) **Váczy K.**, Karaffa L., Kövics Gy., Gál L., Rudó N., Sándor E. (2007): A *Botrytis cinerea* transzpozon elemeinek és micéliális kompatibilitási csoportjainak vizsgálata az Egri és Tokaji borvidékeken. Lippay-Ormos-Vas Tudományos ülésszak Budapest. Összefoglalók: pp.:98-99 (magyar-angol).
- 4) **Váczy K.** (2006): A *Botrytis cinerea* jelentősége a borminőség kialakulásában. VII Szőlészeti és Borászati Konferencia, Eger. Program és absztrakt: pp. 14.
- 5) **Váczy K.**, Gál L., Karaffa, L., Kövics Gy., Sándor E. (2005): Az Egri és Tokaji borvidékről származó *Botrytis cinerea* izolátumok összehasonlítása. MTSZ. Tudományos közlemények 8. pp. 43.
- 6) **Váczy K.**, Gál L., Karaffa, L., Kövics Gy., Sándor E. (2005): Az Egri és Tokaji borvidékről származó *Botrytis cinerea* izolátumok összehasonlítása. Lippay-Ormos-Vas Tudományos Ülésszak, Budapest. Abstracts 180-181 (magyar-angol).
- 7) **Váczy K.**, Karaffa L., Kövics Gy., Sándor E. (2005): Szürkerothadást okozó *Botrytis cinerea* populációk jellemzése miniszatellit szekvencia vizsgálatával. 51. Növényvédelmi Tudományos Napok, Budapest. Proceeding book: pp 31.
- 8) **Váczy K.**, Karaffa L., Kövics Gy., Sándor E. (2004): Az Egri borvidéken szürkerothadást okozó *Botrytis cinerea* populációk változékonyságának vizsgálata. A

Magyar Mikrobiológiai Társaság 2004 évi Nagygyűlése,
Keszthely. Előadás kivonatok pp. 129-130.

9) **Váczy K.**(2002): Molekuláris biológiai módszerek a szőlő gombabetegségekkel szembeni rezisztencianemesítésében. MTSZ. Tudományos közlemények 5. pp. 30.

10) **Váczy K.**, Sándor E., Szentirmai A., Pócsi I., Karaffa L. (2000): Peroxidok és szerves savak szerepe az *Acremonium chrysogenum* alternatív légzésének szabályozásában. *Acta Biologica Debrecina* **22**: 180.