

# **DIPLOMADOLGOZAT**

**URBÁN GYÖRGY**  
**Növényorvosi MSc**

**Gödöllő**  
**2023**



**Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem**

**Szent István Campus**

**Növényorvos MSc**

**XANTHOMONAS HORTORUM PV. GARDNERI  
BAKTÉRIUM ELLEN REZISZTENCIÁT BIZTOSÍTÓ  
GÉNEK AZONOSÍTÁSA PAPRIKÁBAN**

**Belső konzulens:** Dr. Tóth Zoltán  
tudományos munkatárs

Dr. Turóczy György  
egyetemi docens

Tóth Zoltán Gábor  
PhD hallgató

**Készítette:** **Urbán György**

E16BKU

nappali tagozat

**Tanszék:**  
Integrált Növényvédelmi Tanszék

**Gödöllő  
2023**

## Tartalom

Tartalom.....	2
DOLGOZATBAN HASZNÁLT RÖVIDÍTÉSEK .....	4
1. Bevezetés és célkitűzések .....	5
2. Szakirodalmi áttekintés.....	6
2.1. A paprika jellemzése .....	6
2.2. A <i>Xanthomonas</i> jellemzése .....	8
2.2.1. A <i>Xanthomonas</i> taxonómiája.....	8
2.2.2. A <i>Xanthomonas</i> gazdasági jelentősége .....	9
2.2.3. A <i>Xanthomonas</i> gazdanövényköre .....	9
2.2.4. A <i>Xanthomonas</i> rezisztencia gének.....	10
2.2.5. A <i>Xanthomonas</i> tünetei a növényen.....	11
2.3. Paprika integrált védelme .....	12
2.3.1. Paprika kórokozói.....	12
2.3.2. Paprika kártevői.....	13
2.3.3. Paprika gyomkárosítói.....	14
2.3.4. Élő hasznos szervezetek és biológiai védekezés .....	14
2.3.5. Védekezés a <i>Xanthomonas</i> fertőzés ellen.....	15
2.4. Baktérium és növény kapcsolata .....	15
2.5. Molekuláris módszerek.....	17
2.5.1. Polymerase chain reaction (PCR).....	17
2.5.2. Molekuláris markerek típusai .....	18
3. Anyag és módszer.....	21
3.1. Fenotípezés .....	21
3.1.1. Növényi anyag .....	21
3.1.2. Sterilizáció.....	22
3.1.3. MS20 táptalaj.....	22
3.1.4. Növénynevelés.....	22
3.1.5. Baktérium izolátumok .....	23
3.1.6. Infiltráció.....	23
3.1.7. Baktérium fertőzés kiértékelése.....	25
3.1.8. Baktérium növekedési teszt .....	25
3.1.9. Keresztelés .....	26
3.2. Genotípezés .....	27
3.2.1. DNS izolálás .....	27
3.2.2. PCR.....	27
3.2.3. Horizontális gélelektroforézis.....	30

3.2.4. SSCP (Single Stranded Conformational Polymorphism).....	30
3.2.5. Ezüstfestés .....	31
4. Eredmények, következtetések, javaslatok .....	33
4.1. Infiltrálás.....	33
4.2. Baktérium fertőzés kiértékelése ( <i>Xg 51, Xg 152, Xg 153, Xg 156, Xg 177</i> ) .....	35
4.3. Baktérium növekedési teszt.....	36
4.4. Keresztezés eredményei .....	37
4.5. Hibriditás ellenőrzés .....	38
5. Következtetések és javaslatok .....	41
6. Összefoglalás .....	42
7. Köszönetnyilvánítás.....	44
8.. Irodalomjegyzék .....	45

## DOLGOZATBAN HASZNÁLT RÖVIDÍTÉSEK

AFLP - Amplified fragment length polymorphism

Bs - Bacterial spot

CAPS - Cleaved amplified polymorphic sequences

CMV - *Cucumber mosaic virus*

ISSR - Inter simple sequence repeats

MQ – Milli-Q

PAA – Poliakrilamid

PCR - Polymerase chain reaction

RAPD - Random amplified Polymorphic DNA

RFLP - Restriction Fragment length polymorphism

SAR - Systemic acquired resistance

SCAR - Sequence characterized amplified region

SNP - Single nucleotide polymorphism

SSCP - Single-strand conformation polymorphism

SSR - Simple sequence repeats

TMV – *Tobacco mosaic virus*

ToBRFV – *Tomato brown rugose fruit virus*

ToMV – *Tomato mosaic virus*

TSWV – *Tomato spotted wilt virus*

Xhg – *Xanthomonas hortorum pv. gardneri*

## 1. Bevezetés és célkitűzések

Világszerte a *Solanaceae* növény családba tartozó zöldségnövények az egyik legelterjedtebbek mind a termesztésterületüket, mind a fogyasztásukat tekintve. Ez okból kifolyólag komoly gazdasági jelentőséggel bírnak azok a kutatások, melyek a rezisztenciaforrásokra összpontosulnak. Mivel a klímaváltozás okozta, a korábitól eltérő viszonyok hatására egyre szélesebb körben képesek elterjedni bizonyos növényi kártevők és kórokozók olyan területeken, ahol azelőtt nem voltak adottak a környezeti feltételek számukra, ezért lépést kell tartaniuk a növény nemesítőknek, hogy fel tudják venni a versenyt az újonnan megjelenő károsítókkal szemben. A fenntarthatóbb növénytermesztés csakis a rendelkezésre álló eszközök integrált alkalmazása révén valósítható meg, melynek egyik alapja az ellenálló fajták alkalmazása. Napjainkban egyre elterjedtebb a *Xanthomonas* baktériumfajok által okozott levélfoltosság is (Stall *et al.*, 2009), amely ellen rezisztenciát nyújtó gének egyes vad *Capsicum* fajokban találhatóak meg (Vallejos *et al.*, 2010), ezért különböző génbanki tételekben kell keresni a rezisztencia forrásokat.

Vizsgálataink célja, új rezisztencia források azonosítása a *Xanthomonas hortorum* pv. *gardneri* (*Xhg*) baktériummal szemben, amely a paprika (*Capsicum spp.*) baktériumos levélfoltosságának kórokozója. Ennek érdekében a United States Department of Agriculture Agricultural Research Service (USDA ARS) által fenntartott vad *Capsicum baccatum* génbanki gyűjteményéből származó azonosítók vizsgálatát tűztük ki célul, vagyis:

- rezisztencia források azonosítása érdekében a génbanki paprika azonosítók különböző *Xhg* izolátummal történő fertőzését és a fertőzésre adott fenotípus meghatározását.
- baktérium növekedési teszt készítése 25°C és 30°C-on a szenzitív és rezisztens levelekről vett mintából, amely segítségével igazolhatjuk a szenzitív, toleráns vagy rezisztens fertőzési fenotípust
- A rezisztenciát adó növényegyedek keresztezését, *Xhg* szenzitív fenotípút mutató *C. baccatum*-mal, F1 hibrid populáció létrehozása érdekében
- A szakirodalom alapján *Capsicum annuum*-ban leírt polimorf SSR és SNP markerek segítségével a létrehozott F1 hibrid utódok hibriditásának ellenőrzése

## 2. Szakirodalmi áttekintés

### 2.1. A paprika jellemzése

Minden kultúrnövény származása onnan eredeztethető, ahol megtalálhatók vad őseik is (Candolle D., 1894). Ezzel szemben Vavilov szerint arról a területről származnak, amelyiken a legmagasabb az adott növényfaj egyedeinek diverzitása (Vavilov, 1927), és ezeket a helyeket géncentrumoknak nevezte. Ebben az értelmezésben véve összesen nyolc elsődleges, míg három másodlagos géncentrum van. A paprikáé Dél-Mexikóban található (Bianchetti & Barboza, 2005)

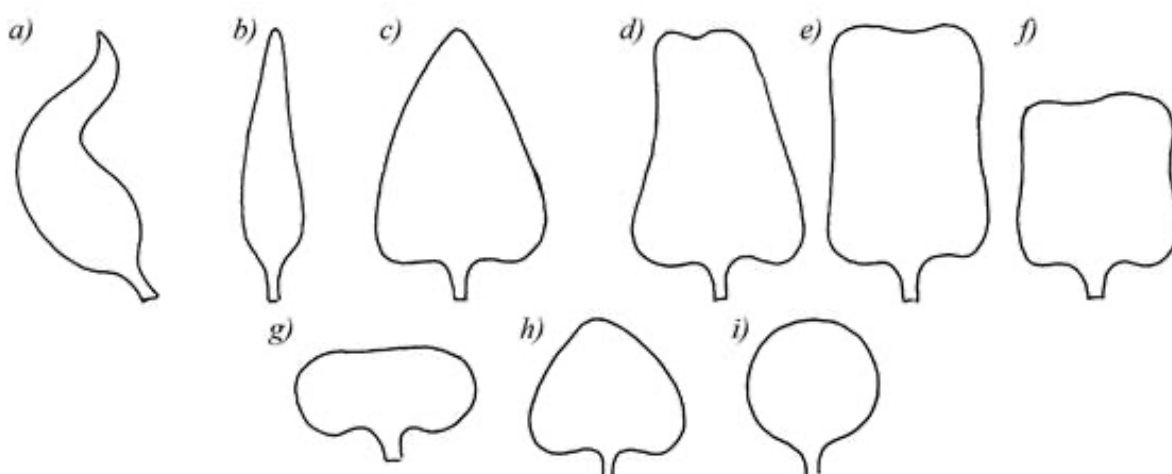
A paprika a növények (*Plantae*) országába, a zárvatermők (*Magnoliophyta*) törzsébe, a kétszikűek (*Magnoliopsida*) osztályába, a burgonyavirágúak (*Solanales*) rendjébe, a burgonyafélék (*Solanaceae*) családjába, a *Capsicum* nemzetségbe tartozik. Magyarországon köztermesztésben főleg a *Capsicum annuum* fajt termesztik fogyasztásra. Világszerte 5 különböző paprikafaj terjedt el. Közép- és Dél-Amerikában a cserjés paprika (*Capsicum frutescens*) az őshonos, valamint kínai paprika (*Capsicum chinense*) és a bogyós paprika (*Capsicum baccatum*) szintén Dél-Amerikából származik. Ezek mellett pedig még említést érdemel a szőrös paprika (*Capsicum pubescens*) (Balázs S., 1994).

Egyéves növény élettartamát tekintve. Az optimális hőmérséklet a paprika számára a 18–30 °C, de 35 °C felett már nehezen termékenyül, míg 10 °C alatt a növény károsodik. 25±7 °C a hőoptimuma (Somos, 1981). Fényigénye nagy, minimum 5000 lux-ra szüksége van, napi 12 órás megvilágításban. Nagy a vízigénye, a tenyészidő alatt 600–700 mm vizet igényel, így ezek függvényében a természetes csapadékmennyiséget öntözéssel ki kell egészíteni. A növény a legtöbbet a talaj vízkapacitásának 60–70 %-os telítettsége mellett képes teremni (Terbe és Slezák, 2008). Gyökérzetét tekintve orsógyökérrel rendelkezik, amelyen buja oldalgyökerek vannak, amelyek a talajban 30-60 cm-re nyúlnak le. Hajtásrendszerüket tekintve két csoportba rendezhetők, folytonos növekedésű és determinált fajták. Az fiatalkori lágy szár idővel kezd elfásodni, a gyökértől fölfelé haladva. A levelek morfológiájára a lándzsa és tojás alak jellemző, melyek mérete eltérő lehet. A nemzetségek elkülönítésében jelentősége van ezeknek a különbségeknek. Egyszerű, épszélű levelei vannak, felületük sima és egy levéllemez egy levélnyélhez kapcsolódik. A levelek elhelyezkedése keresztben átellenes vagy szórt állású lehet (Terbe *et al.*, 2005). A virágzás főhajtáson indul meg, majd ezt követően a mellékhajtásokon folytatódik (Kato és Tanaka, 1971). Az egylaki, váltivarú, öntermékenyülő virágok az ágvillákban helyezkednek el. 5-7 db porzó található egy virágban és portokonként 11000-18000

db pollen van benne. Ha 70-80%, vagy magasabb a levegő relatív páratartalma, valamint ha túl alacsony a léghőmérséklet (16 °C alatti), akkor termékenyülési problémák léphetnek föl a pollenek összetapadása és a virágok elrúgása miatt.

A virágok színe fajoként eltérő, leggyakoribb a fehér színű, de előfordul a lila és sárga színű virág is.

Étkezésre a paprika termését (felfújtt bogyótermés) használjuk. A termés színe, mérete, alakja és íze fajoként és fajtánként eltérő. Alakja lehet szarv-, lapított-, háromszög-, keskeny háromszög-, téglalap-, négyzet-, trapéz-, szív alakú vagy kerekded (1 ábra). (Cselótei *et al.*, 1993).



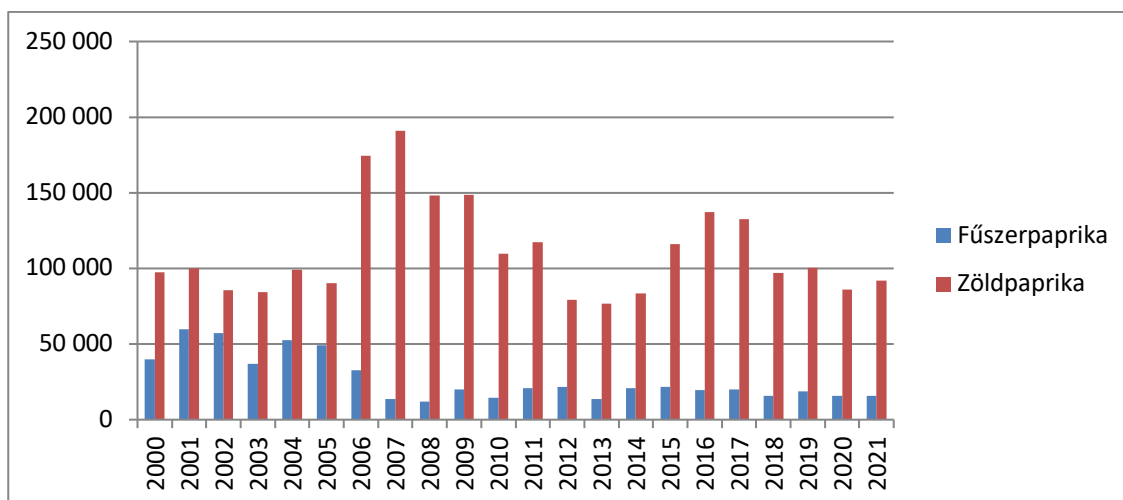
1. ábra: a paprikabogyók hosszmetészetének alakja: a) szarv alakú, b) keskeny háromszög, c) háromszög, d) trapéz, e) téglalap, j) négyzet, g) lapított, h) szív, i) kerek (Cselótei *et al.*, 1993)

A paprika magjai kb. 3-4 évig csíráképesek. Ezermagtömege 3-5 g. A magok alakja vese alakú, sima felületűek, színük szalmasárga, és magas E-vitamin tartalommal rendelkeznek (<http1>).

A paprika 1494-ben került Európába, majd az egész kontinensen elterjedt. Az 1800-as években honosították meg Magyarországon az első, nagybogyójú étkezési fajtákat. Magyarországon az elmúlt 21 év adatait tekintve átlagosan kb. 138 ezer tonna paprika kerül betakarításra évente (2. ábra), azonban az utóbbi években kevesebb volt a betakarított mennyiség a 2007 körüli értékekhez képest. A zöldpaprika vetésterülete a korábbi évekhez képest csökkent, 2021-ben kb. 1500 hektáron termesztették. A Magyarországra történő paprika



behozatal az évek során növekedett, 2021-ben körülbelül 12,5 ezer tonna paprikát hoztak be az országba, míg a kivitel 20 ezer tonna körül stagnál (http2).



2. ábra Magyarországon betakarított paprikamennyiség tonnában kifejezve 2000 és 2021 között (forrás: KSH)

A magyar emberek évente átlagosan 12 kg paprikát fogyasztanak, tehát jelentős szereppel bír az ételmezésben. Mivel alacsonyabb az ország paprika fogyasztása, mint a megtermelt mennyiség, így képes határon túli értékesítésre is (Tégla *et al.* 2006).

## 2.2. A *Xanthomonas* jellemzése

### 2.2.1. A *Xanthomonas* taxonómiája

A baktériumok országába, a *Proteobaktériumok* törzsébe, a *Gammaproteobaktériumok* osztályába, a *Xanthomonadales* rendbe, a *Xanthomonadaceae* családba és a *Xanthomonas* genusba tartozó jelentősebb növénykórokozó baktériumfajok a *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans*, *Xanthomonas Hortorum* pv. *gardneri*, *Xanthomonas vesicatoria*. Pálcika alakú Gram-negatív baktériumok, mozgékonyak, egy flagellummal rendelkeznek és aerob életmódot folytatnak (Potnis *et al.*, 2015). EPPO kódjaik XANTEU, XANTVE, XANTPF és XANTGA. A nevezéktant illetően az évek során folyamatosan változott a kórokozók elnevezése.

Az első jelentések közel egy időben jelentek meg Dél-Afrikában és az Amerikai Egyesült Államokban az 1920-as évek elején. A baktériumot ekkor *Bacterium Vesicatorium*-nak nevezték (Gardner & Kendrick, 1921), majd átnevezték és új nevet kapott, *Xanthomonas Vesicatoria* (Dowson, 1939). Ezt bizonyos *Xanthomonas* fajok újraosztályozása követte, így *Xanthomonas campestris pathovar vesicatoria* lett az új neve a kórokozónak (Young *et al.*,

1978). Az egykori Jugoszlávia területén paradicsomból izolált baktériumot *Pseudomonas gardneri*-nek nevezték el (Šutic, 1957), majd további kutatások során kiderült, hogy ebben az esetben azonban egy *Xanthomonas* törzsről van szó (Jones *et al.*, 2000). Molekuláris genetikai vizsgálatok alapján négy csoportot hoztak létre (A, B, C és D). A legfrissebb álláspont szerint a paprika és a paradicsom *Xanthomonas* fertőzései között együttesen négy fajt különböztetünk meg, *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans*, *Xanthomonas hortorum* pv. *gardneri* és *Xanthomonas vesicatoria* (Morinière *et al.*, 2020).

### **2.2.2. A *Xanthomonas* gazdasági jelentősége**

A baktériumos levélfoltosság világszerte elterjedt betegsége a paprika (*Capsicum annum* L.) és paradicsom (*Solanum lycopersicum* L.) növényeknek. Környezeti igényeit tekintve kedveli a magas páratartalmat és a meleget. A *Xanthomonas hortorum* pv. *gardneri* az EPPO A2-es listáján szerepel, ezek értelmében karantén (zárlati) kórokozónak számít, tehát szigorú ellenőrzés alatt állnak a behurcolásra alkalmas termékek behozatalának és termesztésének szabályozásai (<http3>).

### **2.2.3. A *Xanthomonas* gazdanövényköre**

A legnagyobb gazdasági kárt egyértelműen a *Solanaceae* család növényein okoz a baktérium, különösen a különböző paprika fajokon (*Capsicum annum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum pubescens*, *Capsicum chinense*) és paradicsom fajokon (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*, *Solanum pimpinellifolium*) (Stall *et al.*, 2009). Egyes források szerint bizonyos baktérium fajok kizárólag a paradicsomot vagy a paprikát képesek fertőzni, de előfordul olyan is, hogy mindkettőt. A *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* és a *Xanthomonas hortorum* pv. *gardneri* a paprikát és a paradicsomot is egyaránt képes megfertőzni, míg a *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* törzs jellemzően a paradicsomot fertőzi (Timilsina *et al.*, 2015), azonban az utóbbi években izolálták már paprikán is a baktériumot (Newberry *et al.*, 2019). Emellett a *Solanaceae* család többi tagját is képes fertőzni, pl.: *Datura* spp., *Solanum* spp., *Nicotiana rustica* (EPPO, 2013). A *Solanaceae* család növényein kívüli növényeken is okozhat tüneteket, például megfigyelték már *Amaranthus lividus*, *Physalis pubescens* és *Euphorbia heterophylla* fajokon is (Song *et al.*, 2019, Santos *et al.*, 2020).

#### 2.2.4. A *Xanthomonas* rezisztencia gének

A baktériumos levélfoltosság rezisztencia génjeit *Bs*-nek rövidítik, az angol bacterial spot után. Korábban leírt gének a *Bs1*, *Bs2*, *Bs3*, *Bs4*, *bs5*, *bs6*, *Bs7* és *bs8*, melyek közül a köztermesztésben lévő fajtákban a *Bs1*, *Bs2* és *Bs3* van jelen. A kórokozó 11 rasszal rendelkezik, amelyek ellen eltérő fokú rezisztenciát biztosítanak a korábban említett rezisztencia gének (3. ábra). A *Bs1*, *Bs2*, *Bs3*, *Bs4* gének domináns módon öröklődnek, ezért hagyományos nemesítési módszerrel egyszerűbb bejuttatni a kívánt növényi vonalakba, míg a monogénesen, recesszív módon öröklődő *bs5* és *bs6*-ot, ezek azonban az összes rassz ellen biztosítanak rezisztenciát (Jones *et al.* 2002). A *bs8* gén is recesszíven öröklődik, és hatásosnak bizonyul a *X. gardneri* fertőzésekkel szemben (Zeng *et al.*, 2020). Mivel egyre gyakrabban üti fel fejét a *Xanthomonas* fertőzés világszerte, ezért egyre relevánsabb az új rezisztencia források keresése.

A domináns rezisztencia génekkel rendelkező növények hiperszenzitív reakcióval (HR) védekeznek a kórokozók ellen, ami értelmében a fertőzés hatására nekrotikus foltok lesznek láthatóak a növényen a fertőzés körül (Klement *et al.*, 1964). A HR következtében a növény elpusztítja a saját sejtjeit reaktív oxigéngyökökkel és fitoalexinokkal annak érdekében, hogy ne terjedjen tovább a baktérium sejtről sejtre. Ez a reakció faj specifikus, ugyanis nem minden patogén ellen nyújt védelmet. A hiperszenzitív reakció hátterében a gén a gén ellen kölcsönhatás áll, ami a kórokozóban található avirulencia gén és a növényben lévő rezisztencia gén közötti interakció (Minsabage *et al.*, 1990).

A recesszív rezisztencia génekkel rendelkező növények esetén nem alakul ki a fertőzött levélen HR, tehát nem lesz látható klorotikus folt a fertőzés helyén, hanem enyhén elhalványodik a levél színe, azonban asszimilációs képességben kiesés nem fog gazdasági kárt okozni.

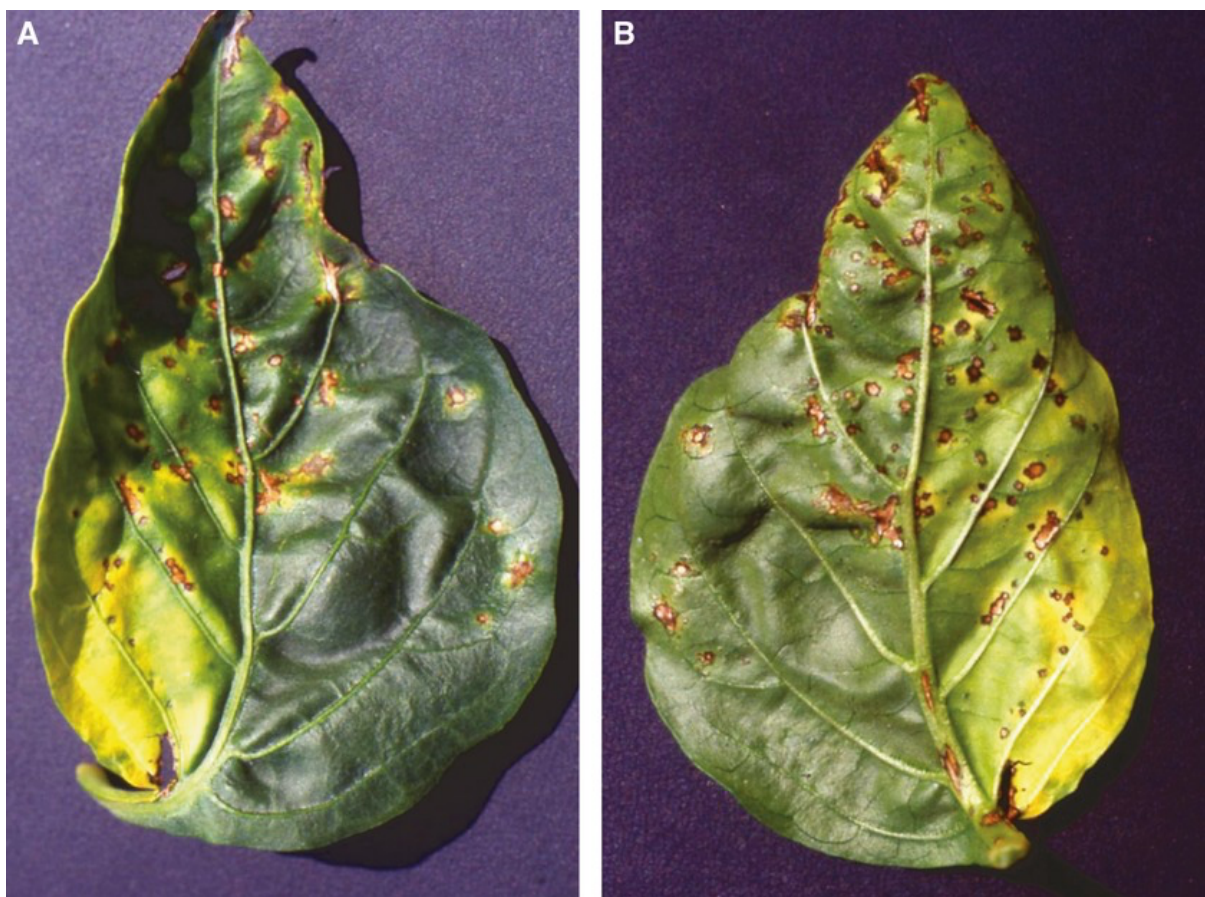
Rezisztencia gén	Azonosító	Fajta
<i>Bs1</i>	PI 163192	<i>C. annuum</i>
<i>Bs2</i>	PI 260435	<i>C. chacoense</i>
<i>Bs3</i>	PI 271322	<i>C. annuum</i>
<i>Bs4</i>	PI 235047	<i>C. pubescens</i>
<i>bs5</i>	PI 163192 vagy PI 271322	<i>C. annuum</i>
<i>bs6</i>	PI 163192 vagy PI 271322	<i>C. annuum</i>
<i>Bs7</i>	1556	<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>
<i>bs8</i>	PI 163192	<i>C. annuum</i>

3. ábra Rezisztencia gének forrása (Stall *et al.*, 2009, http5, Sharma *et al.*, 2022)

## 2.2.5 A *Xanthomonas* tünetei a növényen

A betegség fenotípusos megjelenésére levélfertőzés esetén világos barna, majd sötétedő foltok jelennek meg a növény levelén, amelyek vizenyős hatást keltenek. A párás, esős környezet és az öntözés fokozza a tünetek megjelenését. A foltok alakja szabálytalan, elsárgulnak és a levél színén besüppedhetnek (4. ábra) (Osdaghi *et al.*, 2021). A *Xanthomonas gardneri* nagyobb foltokat okoz a termésen, mint a többi *Xanthomonas* faj (Ma *et al.*, 2011) és agresszívebb is 20°C-on, azonban kevésbé hatékony a fertőzése 30°C-on (Araújo *et al.*, 2011).

A baktérium elsődleges fertőzési forrása a vetőmag. Akár 10 évig is életképes maradhat a kórokozó a vetőmag felszínén (Bashan *et al.* 1982). A csapadék miatti homokfelverődés kisebb sebzéseket okozhat a paprika termésén, amellyel szabad utat nyithat a baktérium okozta fertőzéseknek is.



4. ábra *Xhg* fertőzés paprika levélen (<http3>)

A fertőzés hatására a csökkent asszimilációs felülettel rendelkező növény kondíciója gyengébb lesz, ezáltal kisebb terméshozamot fog produkálni, tehát a betegség gazdasági kárt okoz. A betegség tünetei először a növény alsóbb levelein jelennek meg, majd ezt követően a

felsőbb levelekre is áttérjed. A növényt a sztómákon bejutva és a sebzéseken keresztül tudja megbetegíteni a kórokozó, amely a magon, lehullott leveleken vagy a talajban képes fennmaradni.

A bogyófertőzés során kezdetben elvizenyősödő foltok jelennek meg, amelyek helyén idővel klorotikus, majd nekrotikus sejtelhalás lesz látható, végül varasodó hegek maradnak (5. ábra).



5. ábra *Xanthomonas* tünetek paprika termésén ([http6](#), [http7](#))

A betegség megelőzése céljából elengedhetetlen az egészséges szaporítóanyag beszerzése, jól szellőző állomány kialakítása, a lehullott növényi maradványok eltávolítása és a jó kondícióhoz szükséges körülmények biztosítása.

### 2.3. Paprika integrált védelme

A károsítók elleni integrált védekezés során az első lépés a megelőzés. A fertőzésmentes szaporítóanyag alkalmazása mellett az adott fertőzésre rezisztens vagy ellenálló fajtahasználat ajánlott. Agrotechnikai védekezésként a vetésváltás, megfelelő tápanyagutánpótlás, növényi maradványok eltávolítása, valamint az árvakelések szabályozása kiemelt fontosságú. A növény szomszédságának megválasztásánál ügyelni kell arra, hogy megfelelően legyen el térben és időben helyezve a növény. Kerülni kell a *Solanaceae* család növényeit a vetésforgóban a közös kártevők és kórokozók miatt.

#### 2.3.1. Paprika kórokozói

A paprika betegségei közül a *CMV*, *TMV*, *ToMV*, *TSWV* és a *ToBRFV* jelentenek veszélyt a termesztésre. A *CMV* levéltetvekkel (*Myzus persicae*) és mechanikailag is terjed, a

TMV, ToMV és TSWV tripszekkel (*Thrips tabaci*, *Frankliniella occidentalis*), valamint növényi maradványokkal terjednek, a ToBRFV pedig mechanikailag (Rotenberg *et al.*, 2015).

Ha a kabócák (*Hyalesthes obsoletus*) elszaporodnak, akkor azokban az években felütheti a fejét az általuk terjesztett sztolbur beetegség (*Stolbur phytoplasma*).

A baktérium betegségek közül a *Pseudomonas viridiflava* és a *Xanthomonas vesicatoria* és *Xanthomonas hortorum* pv. *gardneri* által okozott fertőzések jelentik a legnagyobb gazdasági kárt. A vetőmaggal terjednek, annak felületén maradnak fenn, vagy a növényi maradványokon. A tárolás során is problémát jelenthetnek. Kedvez a betegségeknek a magas hőmérséklet és a magas (90%-os) páratartalom is, illetve a nem megfelelően szellőző állományokban is nagyobb eséllyel jelentkeznek.

A gombás megbetegedések közül a palántadőlés (*Pythium* spp., *Thanatephorus cucumeris*/*Rhizoctonia solani*) kórokozói is jelenthetnek problémát (Nemta *et al.*, 1951). Szabadföldön ha túl magas hőmérsékletnek van kitéve a palánta akkor jelentkezhet, hajtásban pedig a túlzott öntözés hatására jelenhet meg a kórokozó.

A lisztharmat (*Leveillula taurica*) a lehullott leveleken tud fennmaradni és fertőzési forrást jelenteni. A gomba micéliummal telel. Magas hőmérsékleten (26-30 °C) és magas relatív páratartalom (95%) szükséges a kórokozónak.

Az alternáriás magházrothadás (*Alternaria alternata*) micéliummal marad fenn a növényi maradványokon, maggal nem terjed és a nyitott bibepontú fajták érzékenyebbek.

### **2.3.2. Paprika kártevői**

A gyökérgubacs fonálférges (*Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne hapla*, *Meloidogyne enterolobii*) a növény gyökerén okoznak gubacsokat, amelyek a növényen tápanyagellátási problémákat okoznak, ezért azok visszamaradnak a növekedésben, hervadnak és csökken a betakarítható termés mennyisége is (Bíró & Tóth, 2009). Ellenálló fajtákkal, riasztónövényekkel és drasztikus esetben talajfertőtlenítéssel lehetséges védekezni ellenük.

A kétfoltos takácsatkák (*Tetranychus urticae*) levélfonákon szívogatnak, illetve szövedéket készítenek. Kedvelik a száraz és meleg környezetet, a nőstény telél át (Knapp, 2000).

A levéltetvek (pl.: *Myzus persicae*) jelentős vírusvektorok és emellett a mézharmat ürítésükkel kedvező körülményeket teremtenek a másodlagos fertőzések kialakulásához (korompenész) (Bozsik, 2011).

A Tripszek kártétele a vírusvektor mivoltukból fakadóan a legjelentősebb. A tripszek és levéltetvek elleni védekezésben egyaránt a leghatékonyabb védekezés a megelőzés. A palántanevelő berendezések fertőtlenítésével csökkenthető a kártétel esélye. Csapdázással nyomon tudjuk követni a kártevők jelenlétét és létszámukat. Ehhez kék és sárga ragacslapokat használhatunk (Tóth *et al.*, 2000).

Üvegházi molytetű (*Trialeurodes vaporariorum*) kártétele a vírusvektor szerepükben és a korompenész elősegítésében mutatkozik meg (Voinich *et al.*, 2015).

A gyapottok bagolylepke (*Helicoverpa armigera*) hernyója a termésbe berágva károsít és azzal piacképtelenné téve azt.

### **2.3.3. Paprika gyomkárosítói**

Szabadföldi termesztés esetén problémát okozhatnak a gyomnövények, ugyanis a kompetíció révén elvonhatják a növények elől a nedvességet és tápanyagokat, valamint különböző betegségeknek gazdanövényeiként fertőzési forrást jelenthetnek. Életforma csoport szerint a T4, G1 és G3 csoportba tartozó növények okozhatnak gondot, míg üvegházakban a korábbi, magról kelő T1 és T2 életforma csoportba tartozók (Újvárosi, 1973).

A *Solanaceae* család gyomnövényei (*Datura stramonium*, *Solanum nigrum*, *Solanum dulcamara*) különösen nagy kárt tudnak okozni, mert közös fertőzési forrásai lehetnek a szintén *Solanaceae* családba tartozó paprikát fertőző betegségeknek (Reisinger, 1996). A közös növénycsalád miatt a növényvédőszeres védekezést nehéz szelektíven megoldani.

### **2.3.4. Élő hasznos szervezetek és biológiai védekezés**

A termesztési terület biológiai közösségéhez nem csak a kártevő és kórokozó szervezetek tartoznak hozzá, hanem a hasznos élő szervezetek is. A növényvédelmi beavatkozások során ügyelni kell ezen szervezetek kímélésére (Zentai *et al.*, 2006).

A levéltetvek számát gyérítik a katicabogarak (*Coccinellidae*), zengőlegyek (*Syrphidae*), fátyolkák (*Chrysopidae*) és a levéltetű fürkészdarazsak (*Aphidiidae*), valamint pókok (*Araneae*).

A tripszek kártételét mérsékelni képesek különböző ragadozó poloskák (*Orius niger*, *Orius laevigatus*, *Amblyseius cucumeris*) (Houten *et al.*, 1995), amelyeket különböző kiserelésben meg lehet vásárolni és célzottan betelepíteni a kívánt területre. Emellett a pókok (*Araneae*) alkalmazási is sikeres (Bán *et al.*, 2007).

A takácsatkák ellen alkalmazható ragadozó takácsatka (*Typhlodromus pyri*) (Ripka, 2009), üvegházi molytetvek ellen parazitoid fémfürkész (*Encarsia formosa*), fonálférgék ellen pedig hurokvető gombák (*Arthrobothrys oligospora*).

### **2.3.5. Védekezés a *Xanthomonas* fertőzés ellen**

Az integrált növényvédelemnek köszönhetően gazdaságosabb és környezetkímélőbb technológiák alkalmazása terjed a termesztők körében. Az egyik módja a biológiai védekezés, amely keretein belül többek között antagonista szervezeteket alkalmaznak, ezzel visszaszorítva a baktériumfertőzést. Például a *Pseudomonas fluorescens* SF4c levélen történő alkalmazása során a baktérium által termelt bakteriocin 40%-kal képes csökkenteni a *X. vesicatoria* által okozott megbetegedést (Príncipe *et al.*, 2018). A bakteriofág  $\phi$ XaF18 vírus kísérletekben bizonyította hatását (Ríos-Sandoval *et al.*, 2020).

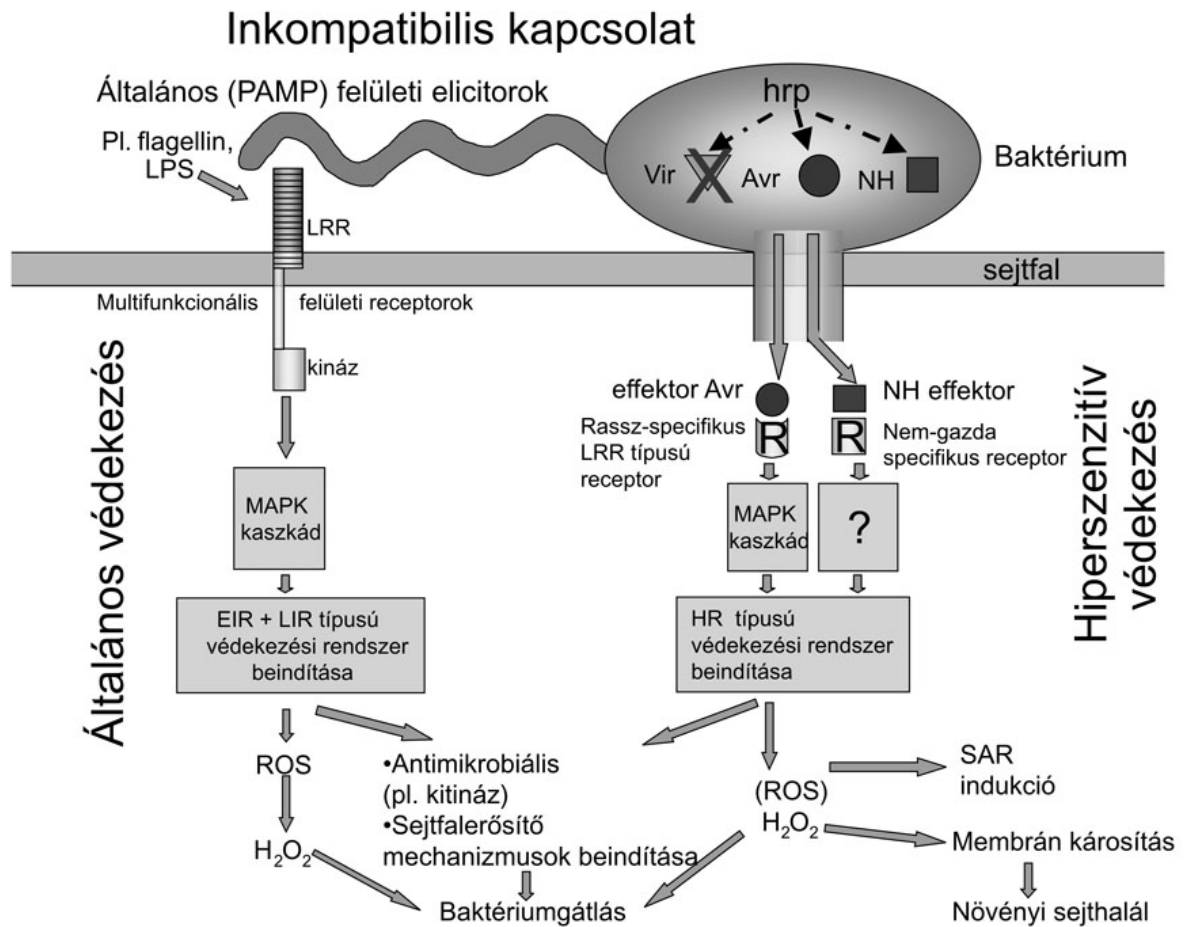
A növényi aktivátorok alkalmazása a növény szisztémás szerzett rezisztenciáján alapul (SAR). Bizonyos vegyületek alkalmazása nyomán, mint például az acibenzolar-S-metil, a növény hatásosan tud védekezni a fertőzéssel szemben (Obradovic *et al.*, 2005). Ha a megelőző és biológiai módszerek nem bizonyulnak eredményesnek, akkor a kémiai védekezés során a réz alapú (réz-hidroxid, réz-oxiklorid) növényvédőszer alkalmazása következhet. A réz alkalmazása környezetterhelő, ezért fenntarthatóbb, ha akár nemesítés, akár biológiai készítmények, vagy ezek kombinált alkalmazásával történik a védekezés (Stall *et al.*, 2009).

## **2.4. Baktérium és növény kapcsolata**

A baktériumfertőzések különböző megbetegedéseket okozhatnak gazdasági növényeinknek, mint például hervadást, tumorképződést, lágyrothadást, nekrozist stb. A tünetek előidézéséhez a kórokozónak tömegesen kell felszaporodnia a növényben. A növény védelmi rendszerének képesnek kell lennie arra, hogy különbséget tudjon tenni az idegen



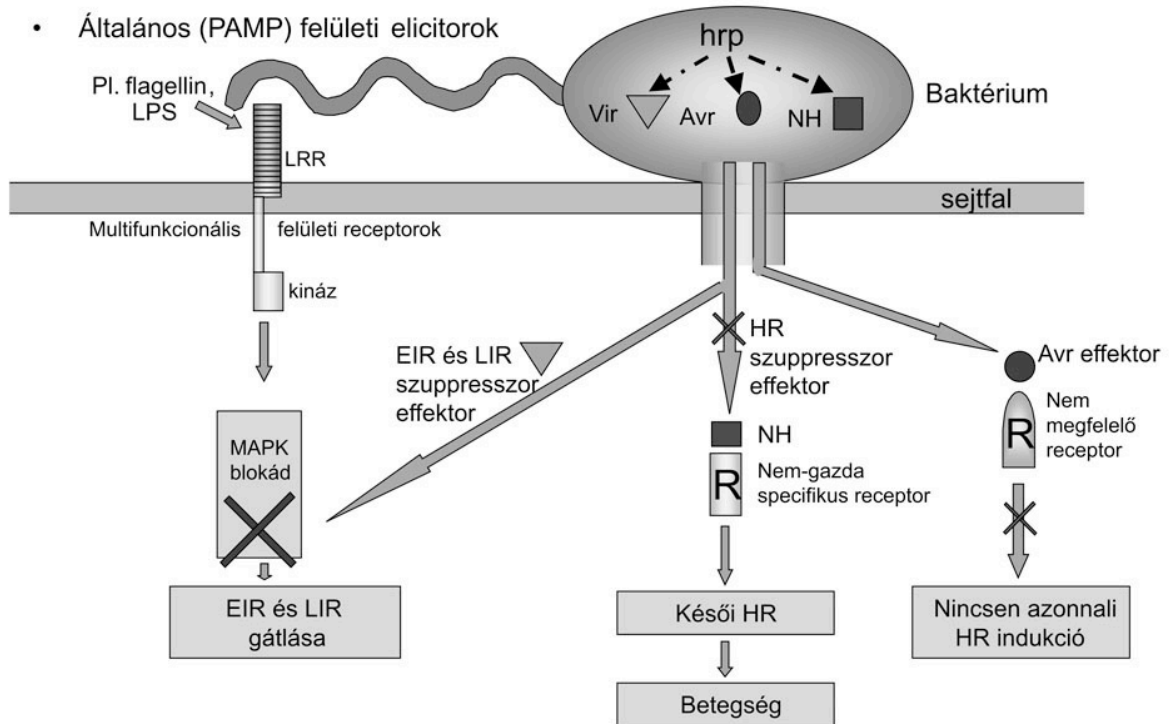
anyagok és a saját maga által szintetizált fehérjék között. Amennyiben idegen anyagot észlel a növény, akkor mihamarabb válaszreakcióval kell reagálnia.



6. ábra Inkompatibilis növény-mikroba kölcsönhatás által kiváltott immunválaszok (Klement, 2004)

Az inkompatibilis kapcsolat során a kórokozó nem tud megbetegedést okozni, ugyanis a növény válaszreakciói nem teszik lehetővé a körülményeket a fertőzéshez (6. ábra). A növényi aktivátorok alkalmazása a növényvédelemben is ezen az elven alapul, pl. Foszetil-Al (Nemesthoty & Guest, 1990).

## Kompatibilis kapcsolat



7. ábra Kompatibilis növény-mikroba kölcsönhatás (Klement, 2004)

A kompatibilis kapcsolat esetén (7. ábra) a növény nem képes felismerni a kórokozó Avr génjét, így elmaradhat, vagy késői válasz érkezik a növény részéről, amely nem elegendő a kórokozó terjedésének megállításához.

## 2.5. Molekuláris módszerek

### 2.5.1. Polymerase chain reaction (PCR)

A polimeráz láncreakció során egy kiválasztott DNS szakasz *in vitro* sokszorosítása történik. Kary B. Mullis nevéhez fűződik a technológia kidolgozása, amely az 1985-ös évben került bejelentésre (Mullis & Faloona, 1987). A DNS denaturálását követően hozzáadott polimeráz enzimek minden ciklus végén funkciójukat veszítették a magas hőmérséklet miatt, ezért minden ciklus kezdetén újból hozzá kellett adni őket. Később felfedeztek egy hőstabil polimeráz enzimet (Taq polimeráz), amelyet a *Therminus aquaticus* baktériumból nyertek ki, így ennek segítségével nem kell minden ciklus után új polimeráz enzimet hozzáadni a reakcióhoz (Hajós, 1999).

A reakcióhoz a polimeráz mellett szükség van a DNS mintára, az amplifikálni kívánt DNS szakasz primerjeire, dezoxiribonukleotid-trifoszfátokra (dNTP) a leendő szakaszok építőelemeinek biztosítására, pufferre, amely a polimeráz enzim működéséhez megfelelő ionerősség biztosításához szükséges, illetve  $Mg^{2+}$  ionok.

A PCR során több ciklus követi repetitíven egymást. A magasabb hőmérsékleten történő DNS szálak denaturálása után a primerkötődés következik alacsonyabb hőfokon, majd ettől magasabb hőmérsékleten történik a lánchosszabbítás. Amint véget ért a lánchosszabbítás, kezdődik előlről a folyamat. Minden ciklus végén a kapott DNS termék az előző ciklus négyzete lesz. A minél jobb PCR termékek érdekében a primerek optimális tapadási hőmérsékletének megválasztásával és a ciklusok számával lehet optimalizálni. A termékeket gélelektroforézis során tudjuk vizsgálni (Hajós, 1999).

## **2.5.2. Molekuláris markerek típusai**

Többféle csoportosítási módja létezik a molekuláris markereknek. A legáltalánosabb az, hogy öröklődésmenetük szerint domináns és kodomináns csoportba soroljuk őket. Segítségükkel lehetőség nyílik a diploid növények homozigóta és heterozigóta egyedeinek az elkülönítésére (Hartl, 1988).

A leggyakoribb domináns markerek közé tartoznak a Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR), és az Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP), míg kodomináns markerek a Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLP), Mikroszatellitek (SSR), Sequence Characterised amplified regions (SCAR), és a Cleaved amplified Polymorphism (CAPS) (Idrees & Irshad, 2014).

### **2.5.2.1. RAPD**

A RAPD-k rövid (10 bp), random szekvenciával rendelkező primerek, amelyeket a DNS fragmentek amplifikálásához PCR használatával alkalmaznak. Ezek az ologonukleotidok forward és reverse primerként is szolgálhatnak, valamint párhuzamosan több genomi helyről (1-10) is keletkezhet termék. A termékeket PAA vagy agaróz gélen elválasztva, lehetséges lesz polimorfizmust találni. Ezek a különbségek az eltérő primerkötőhelyek, vagy az amplifikált régióban található deléciók, inverziók, és inszerciók miatt adódhatnak. Alkalmazásának előnye,

hogy az ismertlen DNS szekvenciával rendelkező mintákon képes a különbségek kimutatására, kevés a templát DNS igénye és gyors. A fragmentumok az esetek nagy részében domináns jellegűek (Hadrys *et al.*, 1992).

#### **2.5.2.2. ISSR**

Az ISSR-ek olyan DNS fragmentek, amelyek 100-3000 bp-ból állnak és szomszédos, ellentétes orientációjú mikroszatellit régiók között helyezkednek el. Felhasználásukkal mikroszatellit szekvenciákat lehetséges felhasználni markerként. Ez a technológia ötvözi a mikroszatellitek, AFLP és a RAPD-k univerzalitását. Az ISSR markerek az esetek jelentős részében polimorfok, így hasznosak a genetikai különbségek, filogenetikai és génkapcsoltságot célzó kutatások során. Az esetek nagy részében domináns jellegűek (Reddy *et al.*, 2002).

#### **2.5.2.3. AFLP**

Az AFLP-t a polimorfizmus kimutatására alkalmazzák. A DNS-t két enzimmel emésztik, majd adapterek kapcsolnak a kapott fragmentumokhoz, amelyek az adapterekre komplementer szekvenciákat és szelektív bázisokat tartalmaznak. Alkalmazásának előnye, hogy nem szükséges előzetes ismeret a vizsgált minták DNS szekvenciáját illetően ahhoz, hogy különbségek kimutathatók legyenek. A fragmentumok legtöbbször domináns jelleggel bírnak (Vos *et al.*, 1995).

#### **2.5.2.4. RFLP**

Az RFLP technika különböző minták közötti különbségek indikálására való. Azon alapul, hogy a restrikciós endonukleáz hasítóhelyeinek szekvenciájában végbemenő mutációk okán eltérő hosszúságú fragmentumokat fog eredményezni, amelyek felismeréséhez DNS-próbákat alkalmaznak. A hasítóhelyek között található szekvenciákat deléció, inszerció, inverzió, duplikáció, valamint transzlokáció léphet föl, amely során polimorfizmust lehet detektálni. Ezekhez a próbákhoz klónozott géneket, szintetikus oligonukleotidokat, vagy cdns szekvenciákat is felhasználhatnak. Legtöbbször kodomináns jellegűek (Beckman & Soller, 1986).

#### **2.5.2.5. SSR**

Az SSR-ek, vagy másnéven a mikroszatellitek rövid, ismétlődő, 1-6 bp-ból álló nukleotidok. Többségük polimorf, kodominánsan öröklődnek. A magas arányú mutálódási képességüknek és a genomban történő gyakori előfordulásuknak köszönhetően elterjedten alkalmazzák őket markerként a populáció genetica, géntérképezés és taxonómiai kutatások területein. Speciális primerek használatával PCR során lehet amplifikálni őket (Schlötterer, 2000).

#### **2.5.2.6. SCAR**

A SCAR-ek segítségével tudunk lókuszt specifikus markereket készíteni. A DNS-t PCR-rel amplifikáljuk 15-30 bp-os, speciálisan tervezett primerek felhasználásával, amelyek klónozott RAPD fragmentumokból származnak. A technológia előnye, hogy gyors, és magas a reprodukciós képessége, hátránya pedig, hogy rendelkezniük kell információkkal a szekvenciát illetően, hogy speciális PCR primert tudjunk tervezni. Legtöbbször kodomináns jelleggel rendelkeznek (Paran & Michelmore, 1993).

#### **2.5.2.7. CAPS**

A CAPS próba során amplifikált DNS fragmentumokat emésztenek restrikciós endonukleázzal, hogy láthatóvá tegyék az RFLP-eket. Speciális szekvenciával rendelkező primereket alkalmaznak egy már korábban térképezett DNS szekvencia vizsgálatára. Alkalmazható például heterozigotitás megállapítására. Agaróz gélen szemmel látható eltéréseket lehet megfigyelni a különböző minták között. A technológia előnye, hogy legtöbbször kodominánsak a markerek, valamint lókuszt-specifikusak, hátránya pedig, hogy szekvenciaspecifikus primereket kell tervezni hozzá (Konieczny & Ausbel, 1993)

### 3. Anyag és módszer

#### 3.1. Fenotípezés

##### 3.1.1. Növényi anyag

A United States Department of Agriculture Agricultural Research Service (USDA ARS) által fenntartott génbanki gyűjteményéből származó vad *Capsicum baccatum* magokat használtuk a vizsgálatainkhoz. A vizsgált 119 darab génbanki tételt közül 97 darab *C. baccatum* var. *pendulum*, 7 darab *C. baccatum* var. *baccatum*, 2 darab *C. baccatum* var. *praetermissum*, 2 darab *C. baccatum* var. *umbilicatum* volt és 11 esetben a variáns nem volt meghatározva (8. ábra).

Változat	Azonosító	Változat	Azonosító	Változat	Azonosító	Változat	Azonosító	Változat	Azonosító
<i>pendulum</i>	PI 441536	<i>pendulum</i>	PI 260458	<i>pendulum</i>	PI 441517	<i>pendulum</i>	PI 593606	<i>baccatum</i>	PI 215699
<i>pendulum</i>	PI 441561	<i>pendulum</i>	PI 441548	<i>pendulum</i>	PI 281311	<i>pendulum</i>	PI 596057	<i>baccatum</i>	PI 439360
<i>pendulum</i>	PI 441577	<i>pendulum</i>	PI 441516	<i>pendulum</i>	PI 441543	<i>pendulum</i>	PI 639650	<i>baccatum</i>	PI 633752
<i>pendulum</i>	PI 441537	<i>pendulum</i>	PI 441518	<i>pendulum</i>	PI 441544	<i>pendulum</i>	PI 257135	<i>baccatum</i>	PI 439361
<i>pendulum</i>	PI 441584	<i>pendulum</i>	PI 200729	<i>pendulum</i>	PI 441578	<i>pendulum</i>	PI 267729	<i>umbilicatum</i>	PI 497974
<i>pendulum</i>	Cbp1	<i>pendulum</i>	PI 257133	<i>pendulum</i>	PI 441550	<i>pendulum</i>	PI 439382	<i>umbilicatum</i>	PI 643124
<i>pendulum</i>	PI 441558	<i>pendulum</i>	PI 596054	<i>pendulum</i>	PI 441552	<i>pendulum</i>	PI 439363	<i>praetermissum</i>	PI 441656
<i>pendulum</i>	PI 441597	<i>pendulum</i>	PI 439362	<i>pendulum</i>	PI 441567	<i>pendulum</i>	PI 585240	<i>praetermissum</i>	PI 594140
<i>pendulum</i>	PI 497972	<i>pendulum</i>	PI 238062	<i>pendulum</i>	PI 441596	<i>pendulum</i>	PI 585241	<i>n/a</i>	PI 424732
<i>pendulum</i>	Cbp2	<i>pendulum</i>	PI 260545	<i>pendulum</i>	PI 441533	<i>pendulum</i>	PI 596058	<i>n/a</i>	PI 653669
<i>pendulum</i>	PI 441554	<i>pendulum</i>	PI 439365	<i>pendulum</i>	PI 441535	<i>pendulum</i>	PI 632923	<i>n/a</i>	PI 439377
<i>pendulum</i>	PI 441557	<i>pendulum</i>	PI 441521	<i>pendulum</i>	PI 355813	<i>pendulum</i>	PI 260591	<i>n/a</i>	PI 431604
<i>pendulum</i>	PI 260543	<i>pendulum</i>	PI 441522	<i>pendulum</i>	PI 281340	<i>pendulum</i>	PI 260546	<i>n/a</i>	PI 257110
<i>pendulum</i>	PI 441553	<i>pendulum</i>	PI 441524	<i>pendulum</i>	PI 257134	<i>pendulum</i>	PI 260593	<i>n/a</i>	PI 585248
<i>pendulum</i>	PI 441575	<i>pendulum</i>	PI 441525	<i>pendulum</i>	PI 159242	<i>pendulum</i>	PI 441520	<i>n/a</i>	PI 439412
<i>pendulum</i>	PI 441581	<i>pendulum</i>	Cbp3	<i>pendulum</i>	PI 199506	<i>pendulum</i>	PI 632925	<i>n/a</i>	PI 666546
<i>pendulum</i>	PI 441539	<i>pendulum</i>	Cbp4	<i>pendulum</i>	PI 241674	<i>pendulum</i>	PI 441560	<i>n/a</i>	PI 585247
<i>pendulum</i>	PI 441568	<i>pendulum</i>	PI 370010	<i>pendulum</i>	PI 593932	<i>pendulum</i>	PI 441583	<i>n/a</i>	PI 585243
<i>pendulum</i>	PI 441574	<i>pendulum</i>	PI 441519	<i>pendulum</i>	PI 585245	<i>pendulum</i>	PI 441545	<i>n/a</i>	PI 585242
<i>pendulum</i>	PI 441576	<i>pendulum</i>	PI 260592	<i>pendulum</i>	PI 585244	<i>pendulum</i>	PI 441562		
<i>pendulum</i>	PI 441541	<i>pendulum</i>	PI 441564	<i>pendulum</i>	PI 596055	<i>pendulum</i>	PI 441551		
<i>pendulum</i>	PI 441542	<i>pendulum</i>	PI 281309	<i>pendulum</i>	PI 639648	<i>pendulum</i>	PI 441540		
<i>pendulum</i>	PI 441588	<i>pendulum</i>	PI 439366	<i>pendulum</i>	PI 632928	<i>baccatum</i>	PI 631150		
<i>pendulum</i>	PI 260542	<i>pendulum</i>	PI 260541	<i>pendulum</i>	PI 632927	<i>baccatum</i>	PI 439384		
<i>pendulum</i>	PI 441580	<i>pendulum</i>	PI 441563	<i>pendulum</i>	PI 585239	<i>baccatum</i>	PI 260434		

8. ábra Vizsgálatainkban felhasznált *Capsicum baccatum* azonosítók listája

### 3.1.2. Sterilizálás

A felhasznált növények magjait kalcium-hipokloritos ( $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ ) oldatban sterilizáltuk. A sterilizálás elején a magokat steril Milli-Q vízben áztattunk 3 órán keresztül a sterilizálás hatékonyságának növelése érdekében. Áztatás után 10%-os  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  oldatba helyeztük a magokat 20 percre. Az oldatba néhány csepp Tween20-t kevertünk, amely segíti a sterilizálás hatékonyságát. A sterilizálását követően a magokat háromszor mostuk steril Milli-Q vízben.

### 3.1.3. MS20 táptalaj

A magok  $\text{Ca}(\text{ClOH})_2$  oldatos felületi sterilizálása után steril fülkében (lamináris fülke) vetettük őket steril növénynevelő üvegekbe. Táptalajként Murashige-Skoog (1962) MS20-at használtunk (9. ábra).

MS makro (10x)	MS mikro (1000x)	MS20 táptalaj
$\text{NH}_4\text{NO}_3$ 16,50 g	$\text{H}_3\text{BO}_3$ 620 mg	MS makro (10x) 100 ml
$\text{KNO}_3$ 19 g	$\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ 1560 mg	MS mikro (1000x) 1 ml
$\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ 4,4 g	$\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ 860 mg	KI 0,83 mg
$\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ 3,7 g	$\text{NaMoO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ 25 mg	NaFe EDTA 36,7 mg
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ 1,7 g	$\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$ 2,5 mg	Myo-Inositol 100 mg
	$\text{CoCl} \times 6 \text{H}_2\text{O}$ 2,5 mg	Thiamin-HCl 0,1 mg
	KI 1mg/ml	Pyridoxin-HCl 0,5 mg
		Glicin 2 mg
		Szacharóz 20 g
		pH 5,8
		agar(oxid) 6,5 g

9. ábra MS20 táptalaj összetétele

1M-os KOH felhasználásával állítottuk be a végső pH értéket.

### 3.1.4. Növénynevelés

Amikor a növények elérték a kétleveles állapotot, Klasmann Traysubstrate tápközeggel feltöltött cserepekbe helyeztük át őket, amely 14% N, 7% P, 21% K, 1% Mg és 1% mikroelemet (Cu, B, Mn, Fe, Zn) tartalmazott. Ezt követően következett a növények akklimatizálása, majd a továbbnevelésük üvegházi körülmények között történt. A növényeket  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ -on, 14/10-es megvilágítási periódussal tartottuk 60% körüli relatív páratartalom mellett. Amikor a növények elérték a 6-8 leveles kort, alkalmasak voltak a fertőzési teszt elvégzésére.

### 3.1.5. Baktérium izolátumok

A baktérium fertőzéshez az összes paprika esetén két különböző baktérium izolátumot használtunk. Az SRB-t, amely egy szerbiai szántóföldi izolátum és az LMG962-t, amely a belgiumi Belgian Coordinated Collections of Microorganisms (BCCM) baktérium bankból származik.

A rezisztens fenotípust mutató növényeken további fertőzéseket végeztünk az *Xg51*, *Xg152*, *Xg153*, *Xg156* és *Xg177 Xanthomonas* törzsekkel, amelyeket Brian Staskawicz bocsátott rendelkezésünkre (Innovative Genomics Institute University of California, Berkeley). A baktériumokat YDC (Yeast extract-dextrose-CaCO<sub>3</sub> agar) lemezekben növesztettük két napig, 30 °C-on.

A fertőzéshez szükséges YDC táptalaj összetétele:

5g glükóz

40g kalcium-karbonát

5g élesztőkivonat

15g agar

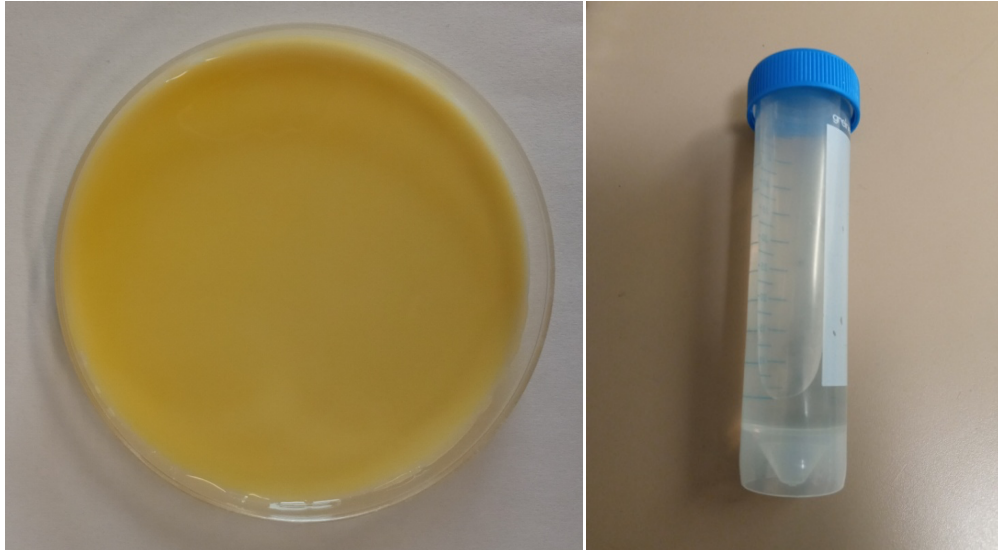
MQ vizzel 1 l-re ki kell egészíteni

Az YDC táptalaj sterilizálása autoklávban történt.

### 3.1.6. Infiltrálás

A fertőzés infiltrálással történt, amelyhez a szükséges baktériumtörzseket felhasználásig -70 °C-on tároltuk, glicerinben. A táptalajra történő oltást steril eszközökkel steril fülke alatt végeztük. Ezt 2 napos inkubálás követte 30 °C-on. A felnőtt baktériumtelepekre (10. ábra) a Petri-csészében 700 µl MQ vizet pipettáztunk, majd egy pipetta hegy segítségével összekevertük és egy Eppendorf-csőbe juttattuk.





**10. ábra** Baktériumtelep YDC táptalajon (saját fotó) **11. ábra** Baktérium szuszpenzió Falcon csőben (saját fotó)

Majd ezt követően az Eppendorf-csőbe 700 µl MQ vizet pipettáztunk, és a szuszpenziót Vortexeltük. Ezt követően egy-egy Falcon csőbe 50 ml vizet mértünk és az baktérium szuszpenzióból 100 µl -t pipettáztunk hozzá (11. ábra). Ezt követően a vizes baktérium oldatokat ismét Vortexeltük. Ekkor a csőben lévő baktériumszám labortapasztalatok alapján  $10^6$  cfu/mL.

Alkalmanként 45-50 db növény 2-2 levelét számoztuk meg baktérium izolátumonként, majd ezt követően a baktériumtörzsekkel elvégeztük az infiltrálást. A baktérium szuszpenziót fecskendőbe felszívtuk, majd annak végére egy lyukkal ellátott radírt helyeztünk, hogy a levél fonákján alkalmazott nyomás minél nagyobb felületen el tudjon terülni és a baktérium szuszpenzió minél könnyebben be tudjon jutni a sejtközötti állományba (12. ábra). A fertőzést követően a növényeket kontrollált körülmények között (25 °C, 16/8 órás fotoperiódus) tartottuk.



**12. ábra** Infiltrálás (saját fotó)

### **3.1.7. Baktérium fertőzés kiértékelése**

A bakteriális fertőzésre adott fenotípusos választ folyamatosan figyelemmel kísértük, mivel az esetlegesen megjelenő HR az infiltrálást követő 16-48 órában megjelenik, de a végső kiértékelésre 7 nap után került sor. Az ekkor tapasztalt válaszreakciók szolgálták alapul a további elkülönítésre, ahol szenzitív és rezisztens csoportokra osztottuk a növényeket. Amennyiben egy növény rezisztens volt, akkor a levélen halványsárga, világoszöld színű elszíneződést tapasztaltunk, majd ezek a tünetek néhány hét eltelte után el is múltak, a növény nem betegedett meg. Ezzel ellentétben a szenzitív növényeken sötétzöld, elvizenyősödő folt jelent meg, amely irreverzibilis módon elszáradt. Több esetben a növény le is dobta a fertőzött leveleit.

### **3.1.8. Baktérium növekedési teszt**

Annak érdekében, hogy megállapíthassuk, hogy a rezisztencia jelenléte a növényekben milyen hatással van a baktérium sejtszámának növekedésére, valamint a hőmérsékletnek a rezisztenciára, baktérium növekedési tesztet végeztünk. Meghatározott időközönként a fertőzött levélrészről baktérium izolálást végeztünk, hogy következtetni lehessen a rezisztens és szenzitív növényekben található baktérium koncentrációra. A fertőzött levelekből egy-egy levélkorongnyi mintát vettünk a fertőzéstől számított 0-2-4-6-8-10-12-30. napon, majd 100 µl MQ víz hozzáadásával lamináris box alatt steril üvegpálcával elroncsoltuk a levélkorongot. Ebből az oldatból egy tízszeres és százszoros hígítást készítettünk és az így készített hígítási

sor oldataiból 10 µl-t pipettáztunk YDC táptalajra, majd szélesztettük. Előzetes labor tapasztalok alapján a 13. ábrán látható hígítási sort alkalmaztuk a CFU pontos számításához.

<b>Napok száma</b>	<b>Hígítás mértéke</b>
0	$10^{-1}$ és $10^{-1}$
2	$10^{-2}$ és $10^{-3}$
4	$10^{-2}$ , $10^{-3}$ és $10^{-4}$
6	$10^{-3}$ , $10^{-4}$ és $10^{-5}$
8	$10^{-3}$ , $10^{-4}$ és $10^{-5}$
10	$10^{-3}$ , $10^{-4}$ és $10^{-5}$
12	$10^{-3}$ , $10^{-4}$ és $10^{-5}$
30	$10^{-3}$ , $10^{-4}$ és $10^{-5}$

13. ábra Alkalmazott hígítások a fertőzéstől eltelt napok függvényében

A kísérletet két ismétlésben végeztük, az egyik ismétlés növényeit 25°C-os, a másik ismétlés növényeit 30 °C-os növénynevelő kamrában tartottuk. A vizsgálatokhoz 4-4 darab rezisztens fenotípust mutató növényt és ugyan ennyi Fehérözönt használtunk szenzitív kontrollként. A növényekről a mintavételekre a fertőzéstől számított 0., 2., 4., 6., 8., 10, 12 és 30. napon került sor. A baktériumtelepeket megszámloltuk és az adatokat statisztikailag kiértékeltek.

### 3.1.9. Keresztezés

A fertőzési kiértékelés alapján kiválogatott rezisztens és szenzitív növényeket üvegházi körülmények között neveltük. A pollen akceptor növények virágainak kasztrálását, a portokok felnyílása előtt végeztük, hogy ne következhesen be önbeporzás, valamint a nem kasztrált virágokat is eltávolítottuk. A portokok eltávolítását a szíromlevelek felnyílását megelőzően kell elvégezni, mivel a szíromlevelek felnyílásával egyidőben történik a pollenszóródás. Pollen donorként a rezisztens fenotípust mutató növényegyedeket használtuk, míg pollen akceptorként, a tesztelt és önbeporzást követően is, ismételten szenzitív fenotípust mutató mutató PI 441537, PI 441597, PI 441557, PI 441526 és PI 441695 azonosítókat használtuk. A kasztrált virágok termékenyítését a felnyílt, rezisztens növényekről származó portokok bibéhez való érintésével végeztük.

## 3.2. Genotípizálás

### 3.2.1. DNS izolálás

A DNS izolálást a Zenogene cég protokollja alapján végeztük, a növényi DNS tisztítására alkalmas kit felhasználásával (ZenBio). A mintákat fiatal levelekből vettük.

DNS izoláláshoz a mintavétel után 1,5 ml-es Eppendorf csőbe 2 db sörétgolyót helyeztünk, illetve 260 µl NA és 4,6 µl Rnáz-t mértünk hozzá. Ezt követően 2 percig homogenizátorban végeztük a növényi szövetek roncsolását. Ezt követően 15 percig 65°C-on termosztátban majd jégen tartottuk a mintákat. 80 µl ND oldatot pipettáztunk rá. Jégen tartottuk 15 percig majd ezt követően 15 percig 13,000 rpm fordulatszámmal centrifugáltuk. A felülúszót óvatosan lepipettáztuk és egy szűrőmembránt tartalmazó, 2 ml-es Eppendorf csőbe pipettáztuk át 400 µl NF oldattal együtt. Ezt követően 2000 rpm fordulatszámon 5 percig, 5000 rpm fordulatszámon 2 percig, majd 13,000 rpm fordulatszámon 1 percig centrifugáltuk. Az átszűrt folyadékot leöntöttük, a membránt pedig kétszer átmostuk 500 µl 70%-os etanollal és 1 percig 5000 rpm fordulatszámon centrifugáltuk. Az átfolyt folyadékot minden alkalommal eltávolítottuk. Ezt követően szobahőmérsékleten 15 percig tartottuk a mintákat, hogy az alkohol el tudjon párologni. Ha ez megtörtént, a 65°C-on melegített E oldatból 80 µl-t adtunk hozzá. A mintákat ezek után 5 percre 65°C-on termoplaten melegítettük, majd 1 percig 3000 rpm fordulatszámon és 1 percig 13,000 rpm fordulatszámon centrifugáltuk,

### 3.2.2. PCR

A rezisztenciát mutató *C. baccatum* és Fehérözön keresztezéséből származó F1 utódnemzedék hibriditását vagyis a keresztezés sikerességét, SSR valamint SNP primerek segítségével kívántuk ellenőrizni. Ehhez szakirodalmakban leírt *C. annuum*-ban fajták között polimorfizmust mutató markerkészletet használtunk, mivel *C. baccatum*-ban polimorf markerkészlet nem áll rendelkezésre. A tesztelt primerek listáját az 15. ábra ábrázolja. A PCR során első lépésben elődenaturáció történik 95°C-on 4 percig, majd az ismétlődő ciklusok kezdődnek, amelyek első fázisa szintén a denaturáció. A második fázisban kapcsolódnak be a primerek. Ez a folyamat 56-65°C-on történik, az alkalmazott primer kapcsolódási hőmérsékletétől függően. Ezt követi a lánc szintézis 72°C -on, ahol a DNS polimeráz megszintetizálja a komplementer DNS szálakat mind a két szálra. Ezt követően ismét a DNS szálak szétválasztása következik, majd kezdődik a ciklus előlről és 40x megismétlődik. Amikor

a 40 ciklus véget ért, egy utópolimerizációs szakasz következik 7 percig 72°C-on, majd végül 4°C-on a minták hűtése.

A PCR mix összeállításához egy mintára vonatkoztatva a következők alkotják:

1µl Forward Primer

1µl Reverse Primer

1,2µl Puffer

0,5µl Taq polimeráz

0,3µl dNTP

1µl DNS templát

7µl MQ víz

A mixet és a mintát tartalmazó csövet pár másodpercig centrifugáltuk. Ezt követően a 14. ábrán feltüntetett program alapján működő PCR gépbe helyeztük a mintákat.

Lépések száma	Ciklusok száma	Folyamat	Hőmérséklet (°C)	Időtartam (min)
1.	1x	elődenaturáció	95	4:00
2.	40x	denaturáció	95	0:30
		primer kapcsolódás	56-65*	0:30
		lánc szintézis	72	1:00
3.	1x	utópolimerizáció	72	7:00
4.	1x	hűtés	4	∞

14. ábra PCR ciklusok (\*eltérő a markerek kapcsolódási hőmérséklete)

primerek	forward	reverse
1	ACACACACAATTCCCTCACTCAC	GTTTCTCTCAAATCCCTCCGTTGTTC
2	TCAACCCAATATTAAGGTCCTTCC	CCAGGCGGGGATTGTAGATG
3	ATGTCGCGCACACAAAAAT	CTGATTTCAGCCTCGGAAAG
4	CCCTAATGCTTGACGTGG	GGTTAAGGGGGTTGGGG
5	AAAAACATGCACCAGTCCTT	CAACCGCCTGAATTTCTCT
6	AGGTCTATCGGAAACAGCCTTCT	GTTTGATCACATCCCAGTCGAATCCTA
7	AAAGGAGAGCGCAGCATAAG	CGCCTTGTTCATTCTGATA
8	ACGAGGCCCAAGCTGTTATGTC	TTGTCCCGACTCTCCATTGACC
9	CAACTTCGCGTTATTGTCCA	AGGGCGGACAAAGAAGATT
10	TCCATAACTTCACCATGAGTATGA	GCAACCCACATTCCCTTCTC
11	TGCTGGGAAAGATCTCAAAAGG	ATCAAGGAAGCAAACCAATGC
12	CTCCTTCGGAAATGCATGATGG	CAGCACTTTGATTCCAGAACTTCG
13	TAAGAGCAAGGAGGCTCTGC	GACATGATCCAACCCAATCC
14	CCAAACGAACCGATGAACACTC	GACAATGTTGAAAAAGTGGAAGAC
15	CCCTCGGCTCAGGATAAATACC	CCCAGACTCCCACTTTGTG

16	CGCATATACATACATAAAATCTTTC	TCAACATCTCACCGAAGCTG
17	AAAGCTTTC AATAGTTTGGGGAC	AGGGATAACGTGCAGAGCAC
18	CGAAAGGTAGTTTGGGCCTTTG	TGGGCCCAATATGCTTAAAGAGC
19	CGAGCAACTCCCTCTTATCG	TCGAATAGCACGCACGTTAG
20	AACGAAAAACAAACCAATCA	TTGAAATTGCTGAAACTCTGAA
21	GGCTATTTCCGACAAACCCTCAG	CCATTGGTGTTTTCACTGTTGTG
22	CCAAACAATGCCTCCCTATC	TGTCAATGCCACAGGTGATT
23	AGAGGGGGTACTCATTGGCT	TCGGAGGAAGAGGAAGAACA
24	GGGATCCGAATCAGAATACG	TCTAGGTTTTCGGGGAGGATT
25	AAACGTATCACAGCCATCA	CGTAACGCACCCTCTAGGAA
26	AAATGGATCCCAACAACCAA	GGAGTTGAAAACGGTGGAGA
27	TCCATACGGTTGGAGGAGAG	ACTATGCTCTGCTGTGCCCT
28	CAGGGTGAGCCAAACCATAG	TCAAGACTACTAGGTCGTGGAATG
29	CCAAGATCAACTCTTACGCTAT	CCCCTCAAGAATCCCTCCAT
30	ACGCCGAGGACTATGATGAC	TTCTTCATCCTCAGCGTGTG
31	TTGAATCGTTGAAGCCATT	ATCTGAAGCTGGGCTCCTTT
32	AGCTTGTGTCATAATCTTGAAAACTC	TGAAAAGACGATTTTGCTAATGCG
33	AAGGGTTCTCGAGGAAATGC	TCAATCCAAAACCATGTGA
34	ATACTAAGGCGTTGGTTCGG	ACAATTGGGGATGCAGAAAAG
35	AATGCTGAGCTGGCAAGGAAAG	TGAAGGCAGTAGGTGGGGAGTG
36	TGAGGCAGTGGTATGGTCTGC	CCCGAGTTCGCTGCCAATAG
37	ATTTGTATATTATTCTTGGCCTTG	TGAACTACCAATTCCAGCC
38	GGGCTGACGGCCATTAAGAAC	CAGACAGCTAGAAAGAGAGGAATTCTG
39	TCATTGACCAATGGAAGCAA	GGGGGATGGGAGGATACTAA
40	TATGCGGCCTTTGATTCAT	TTCCAGTCCCTCAAACACC
41	TTGGTGGAAAAGCGAAAATC	TTGTTGTTTCAGGCTGTCTCG
42	AAGCAGATTTCTCTGGAGGT	TGCTCCACATTTGTGTGGAC
43	TTCCCTTCCCAACATGGTA	ACACCCGAAGATGGGTTAGA
44	CGGATTCGGTTGAGTCGATA	GTGCTTTGGTTCGGTCTTTC
45	TTTGCATGTTTACCCATTCC	ATGTGAAACACATAGGTAGCACTGA
46	GAAGAAACGAAGGATGAACAAAA	CCTGTTTCTCTTCTCAGC
47	AACCAATCCCTTATCCAC	GCATTAGCAGAAGCCATTG
48	CTGGTAGTTGCAAGAGTAGATCG	ATGATCTTTGACGACGAGGG
49	TGGTGAACATGAAGAGCCAA	TTTAGCTGTTTGCCATGCAC
50	AAGATTTGGCGGAGACTTCA	TGCACCAACTTTGTCTCTGC
51	TCACTCGTTATATTTTCTGTCTCG	CTGCTGAAGCGTGGTGAATA
52	GTTGTTGGGTGGTACTTGGG	GGAAGATCTCAAATGGGTCG
53	CGGCGAGATATGGACTTGAT	CCCACGTTATACCATCCAGG
54	CAGGCAATACGGAGCATC	TGTGTTGCTTCTGGACGAC
55	AAAACCGACACACAAAAGC	CCCTAGTTCCGTTGCAGAG
56	TGGGAAATAGGATGCGCTAAACC	AACTTAAAGACTCAAATCCATAACC
57	TCGTATTGGCTTGTGATTTACCG	TTGAATCGAATACCCGAGGAG
58	AGGTGGCAGTTGAGGCTAAG	GTTCTAGGTCTTTGCCCTGG
59	TCTCTCTACATCTCTCCGTTG	TGTCGTTCTGTCGACGTACTC
60	GCCGTCGCAGAAAAGGTAG	TGCATTCTGTGACAGGCTG
61	AATGAAATCAATCGGGCTTG	ACCTCGACCAATCTTTTTG
62	GATGTTAGGTCCGTGCTTCG	AAGCCCCATGGAAGTTATCC
63	CAGGAGATCCGAGGATAAG	TTTTAAAGTTGATCAAGCGTAATTTT
64	TTTTCCCTTTCCAGTTGTCA	ATGGGTGAAGTGTGAAAAGAA
65	TTGTGGAGGAAACAAGCAA	CCTCAGCCCAGGAGACATAA
66	ACGCCAAGAAAATCATCTCC	CCATTGCTGAAGAAAATGGG
67	GATTTTTGACATGTACATTCATG	AACGTTGAAAAATAAAGTAAGCAA
68	GCAGAGAAAATAAATTTCTCGG	CAATGGAAATTCATCGACG
69	AAAACCTCAAACCTACCCTGG	TTAAGCGTAGCGCTTGTGTG

70	CATGGGTGAGGGTACATGGT	AGAGGGAAGGGTATTGGCC
71	CTAGTACGAGGCAGGGGAGG	CCAGATCCCGCTTTGACTA
72	ATCTTCTTCTCATTCTCCCTTC	TGCTCAGCATTAACGACGTC
73	AAGAACATGAGGAACTTAACCATG	TTCACCCCTTCTCCGACTCC
74	TCGATGACGAAAAAGTGTGAA	AGGGCAAAAGACCCATTCTT
75	CGCATGAAGCAAATGTACCA	ACCTGCAGTTTGTGTGGGA
76	GAGGAAACTCTCTCTCTCTCTC	TCAAGAGACCCCAAATAGGG
77	TGAACAATAATAATTGACAGGACAG	AGCCTCGAGTTTGTCTTAC
78	CCTTCTAGCCACACACCTC	GAAGGAATAACCGGCAGCTA
79	AAGTGTCAAGGAAGGGGACA	CCTAACCACCCCAAAAAGTT
80	TTTGTTCCTGGCATCTCCC	TCTTTCGCTGTTGTCCCTT
81	TTGAATCGTTGAAGCCATT	ATCTGAAGCTGGGCTCCTTT
82	GGCTCCATTTCCCTCTTTC	GCGAAATGTGACCGGATACT
83	CCACATGCCCTTCTCTCTC	GAGGCCTTACCAGATTACACA
84	CCTTTCCTCCCTTATTC	TGAACATTGAAATTTGTGCCTT
85	TATCCGCACGGAGAAAGTT	CCAAGAGATTCTCCACAAA
86	TAATTAATTGAGGTGCGCGA	TCTGGTTGACAATTAGGCC
87	TGATTCTGTTGGTGGGTTT	ATCTTCCGTGTATCGCTGC
88	TCTTACTTCCCCAGATCCCA	TGGCCATTACGCGTTAATAAT
89	GCTCTCAGTCCGTACGAGG	CCGAGCTCGATGAGGATG
90	GCGAGCCAGAAATTCGTTA	CGTGAAGATCATGTGGAACG
91	GCAGAAAACCAGCACACAAA	GCCATTTCGTCAGTGTCTCA

**15. ábra Felhasznált SSR markerek szekvenciái**

### 3.2.3. Horizontális gélelektroforézis

A PCR termékeket 2,5%-os, etídium bromiddal festett TBE agaróz gélen ellenőriztük. A töltéssel rendelkező molekulák, mint például a DNS is az ellenkező töltésű elektróda irányába fog vándorolni a gél közegben. Az agaróz gélelektroforézishez 2,5 g agart mértünk ki, majd hozzáadtuk a 100 ml TBE pufferhez. Ezt addig kellett melegíteni, amíg az agaróz szemcsék teljesen fel nem oldódnak. Ezután a gélt visszahűtöttük, és 5 µl etídium bromidot kevertünk hozzá. Az olvadt gélt egy fésűvel ellátott öntőtálcába öntöttük, majd vártunk, amíg megszilárdult. Ha megszilárdult, a futatókádba raktuk a tálcát, majd addig töltöttük puffer oldattal, amíg az el nem lepte a gélt. Ezután a fésűt eltávolítottuk, majd a mintákat belepipettáztuk a zsebekbe. A gélt 160 V-on 20-30 percig futattuk. Az etídium bromid interkalálódik a fragmentbe, így UV fény alatt detektálható a minta.

### 3.2.4. SSCP (Single Stranded Conformational Polymorphism)

A módszer alapja, hogy az egy szálú DNS akár már egy nukleotid eltérés esetén is más konformációt vesz fel, ebből adódóan a futató közegben eltérő sebességgel tud mozogni. Következtetésképp, az SSCP (Single-Strand Conformation Polymorphism) alkalmas a már egyetlen SNP (Single Nucleotide Polymorphism) nukleotid eltérés kimutatására is.

Futtatóközegként poliakrilamid gélt használtunk az elektroforézis során, amelyhez 10%-os PAA (poliakrilamid) gélt készítettünk.

Összetétele:

- 22,25ml MQ
- 1,5ml 10x TBE
- 7,5ml 40%-os AA
- 3,75ml 2%-os BA
- 65µl TEMED
- 155µl 10%-os APS

A kívánt gél vastagsága 0,5 mm, amelyet úgy készítettünk, hogy két üveglap közé 0,5 mm vastagságú spacert helyeztünk. Ezt követően a lapokat az élüknél fogva ragasztószalaggal egymáshoz rögzítettük. Az elkészített, még folyékony PAA gélt a két üveglap közé öntöttünk, majd a későbbiekben a mintáknak helyet adó fésűt is behelyeztük. A szorosabb rögzítés érdekében az üveglapokat klipszekkel fogatjuk össze, majd 13 percig hagyjuk, hogy végbemenjen a polimerizáció. A polimerizációt követően eltávolítottuk a klipszeket és a fésűt is óvatosan kihúzhatjuk. A fésű által kialakított zsebeket desztillált vízzel kimostuk és az esetleges géldarabokat is eltávolítottuk. Ha ez megtörtént, függőlegesen rögzíthető a gél a futtató kádban, amelyben 0,5x-ös TBE puffert töltöttünk.

A PCR mintákhoz 3 µl festéket adtunk és 95°C-on 5 percig denaturáltuk, majd jégen tároltuk a mintákat, nehogy a DNS renaturálódjon. A gél zsebeibe 7-7 µl mintát pipettáztunk be. A minták stabilitása céljából a futtatást 4°C-os hidegkamrában végeztük, ami futtatott termék méretétől függően 18, vagy 21 óra volt. Ha a futtatási idő letelt, a géleken a mintákat ezüstoffestéssel tettük szemmel láthatóvá.

### **3.2.5. Ezüstoffestés**

A PAA géleken a mintákat ezüstoffestéssel tettük láthatóvá. Az eljárás során a gélt több különböző összetételű oldattal kezeltük, amelyekben több lépésben áztattuk.

#### **I. lépés: fixálás**

A fixáló oldat 200ml desztilláltból víz és 3 ml 65%-os HNO<sub>3</sub>-ból áll. A gélt az oldattal 5 percen keresztül alacsony intenzitású síkrázógépre tettük, majd háromszor 20 másodpercen keresztül desztillált vízzel öblítettük.

#### **II. lépés: festési eljárás**



A festő oldathoz 200ml desztillált víz és 0,4g  $\text{AgNO}_3$  volt szükséges. A festés során 25-30 percig ráztuk a gélt az oldatban. Az idő letelte után ismét háromszor öblítettük.

### **III. lépés: előhívás**

Az előhívó oldathoz 200ml desztillált víz, 12g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , és 70 $\mu$  35%-os formaldehid volt szükséges. A 10-15 perces rázatás után a fragmentek láthatóvá vátnak erősségétől függően, majd ismét háromszori öblítés következett.

### **IV. lépés: második fixálás**

A második fixáló oldathoz 62,5ml 96%-os ecetsav volt szükséges, amit desztillált vízzel 600ml-re kiegészítettünk. Ezt 5 perc rázatás, majd háromszori öblítés követte.

### **V. lépés: glicerines áztatás**

Az utolsó lépésben glicerines oldatban áztattuk a gélt. Az oldathoz 69ml 87%-os glicerin szükséges, amelyet desztillált vízzel 600ml-re egészítettünk ki és a géllal együtt 10-15 percig ráztuk. Ezt követően celofánnal légmentesen letakartuk, valamint a keletkezett levegő, vagy folyadékbuborékokat egy tű használatával eltávolítottuk, annak érdekében, hogy a készült géleket tartósítsuk és 24 órás szobahőmérsékleten történő szárítással záródott a folyamat.

## 4. Eredmények, következtetések, javaslatok

### 4.1. Infiltrálás

A vizsgálatok során 119 azonosító növényeit fertőztük, amelyek mind a *Capsicum baccatum* fajba tartoznak. A fertőzéshez *X. gardneri* baktériumtörzseket használtuk (LMG962, SRB). A tünetek kiértékelését a fertőzés napjától számított hetedik napon végeztük. Az első levélszíneződések már a 4-7. napon megjelentek, a szenzitív növényeken pedig a 6-10. napon nekrotikus foltokat figyelhettünk meg (16. ábra).



16. ábra Szenzitív fenotípus (saját fotó)

A kontrollként vetett Fehérözön növényeken a szenzitív fenotípusra jellemző klorotikus léziók jelentek meg, majd vizenyős hatású foltokká alakultak át, amelyek idővel megbarnultak és nekrotikus foltokká váltak. A legtöbb *C. baccatum*-nál a Fehérözönnel megegyező, szenzitív tüneteket tapasztaltunk.



17. ábra Rezisztens fenotípusok (balra SRB, jobbra LMG962)  
(saját fotó)

Az *X. gardneri* izolátumokra négy *C. baccatum* genotípus erős rezisztenciát mutatott (17. ábra). A növényekben világosabbá vált a fertőzött levélrégió, az infiltrálást követő 30. napon pedig az egészséges és a fertőzött levél között már nem volt szemmel látható különbség. Az erek mentén a levélen a fertőzést követő 10-12. napon apró nekrotikus foltok megjelenhettek, de jelentősen a 30. napig nem növekedtek és azután sem.

A vizsgált 119 azonosító közül nyolc azonosító részben rezisztensnek bizonyult, tehát különböző baktériumtörzsekre rasszspecifikus rezisztenciát mutattak, négy azonosító pedig teljes rezisztenciát mutatott mindkét baktérium izolátumra (18. ábra) (Tóth *et al.*, 2023).

Faj	Változat	Azonosító	SRB	LMG962
<b>C. baccatum</b>	pendulum	Cbp1	R	R
		Cbp2	R	R
		Cbp3	R	R
		Cbp4	R	R
		PI441541	R	Sz
		PI441542	R	Sz
		PI370010	Sz	R
		PI441543	R	Sz
		PI441578	R	Sz
		PI441552	Sz	R
		PI441533	Sz	R
		PI441520	R	Sz

18. ábra Részleges vagy teljes rezisztenciát mutató azonosítók (R: rezisztens, Sz: szenzitív)

#### 4.2. Baktréium fertőzés kiértékelése (Xg 51, Xg 152, Xg 153, Xg 156, Xg 177)

A négy rezisztens fenotípussal rendelkező azonosítót további baktériumtörzsekkel fertőztük meg (Xg 51, Xg 152, Xg 153, Xg 156, Xg 177) a rezisztencia spektrumának vizsgálata céljából.

Faj	Változat	Azonosító	SRB	LMG962	xg51	xg152	xg153	xg156	xg177
<b>C. baccatum</b>	pendulum	Cbp1	R	R	R	R	R	R	R
		Cbp2	R	R	R	R	R	R	R
		Cbp3	R	R	R	R	R	R	R
		Cbp4	R	R	R	R	R	R	R

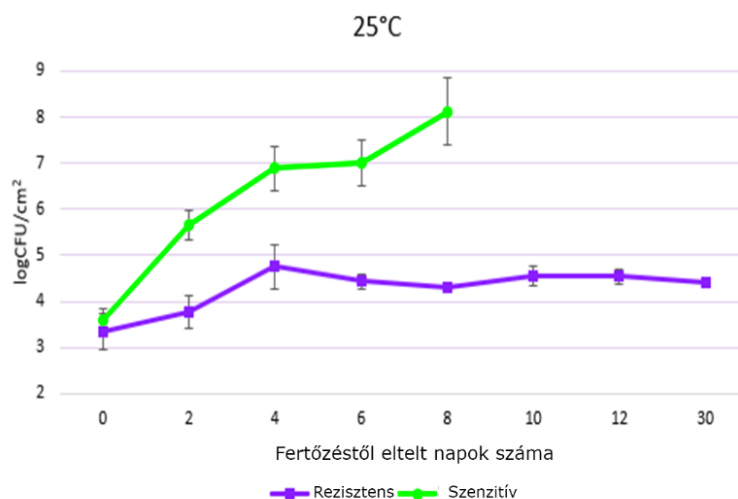
19. ábra Rezisztens azonosítók hét *X. gardneri* izolátum fertőzésre adott válaszreakciójuk alapján (R: rezisztens)

A kiértékelések során egyöntetűen rezisztens fenotípust mutattak a növények az öt további *X. gardneri* izolátumra is (19. ábra).

### 4.3. Baktérium növekedési teszt

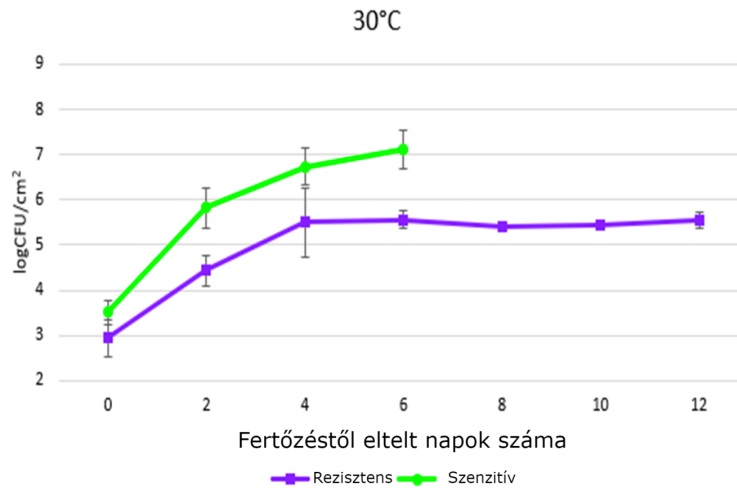
A baktérium növekedési teszt célja az, hogy számszerűsíthető adatok segítségével tudjuk értékelni a rezisztens tulajdonság jelenlétének hatását a baktériumok szaporodására a fertőzött levelekben, illetve, hogy a magasabb hőmérsékletnek milyen hatása van a rezisztenciára.

Fehérözönt alkalmaztunk szenzitív kontrollként. Kezdetben 25°C-on közel egyenlő értékek után a szenzitív növényekben négy nappal a fertőzést követően 6,7 lgCFU/cm<sup>2</sup>-t lehetett számolni, majd további növekedés volt megfigyelhető, ezt követően pedig a nyolcadik napon ledobta a fertőzött levelet a növény. A rezisztens növényeken ezzel ellentétben a legmagasabb érték 4,75 lgCFU/cm<sup>2</sup> volt a negyedik napon, majd a továbbiakban ezen a szinten stagnált (20. ábra).



20. ábra Baktérium növekedési teszt 25°C-on

A szenzitív növények 30°C-on 7,1 lgCFU/cm<sup>2</sup> értéket mutattak a hatodik napon, majd ezt követően ledobták a levelet. A rezisztens növényeken a hatodik napon 5,55 lgCFU/cm<sup>2</sup> volt számolható, majd enyhe csökkenést lehetett tapasztalni (21. ábra).



21. ábra Baktérium növekedési teszt 30°C-on

A szenzitív növények esetében nem volt jelentős hatása a hőmérsékletnek a növekedési görbe alakulására a *Xhg* fertőzés során, azonban a fertőzött leveleket hamarabb ledobták a magasabb hőmérsékleten. A 25°C-on tartott rezisztens növényekből a fertőzéstől eltelt 30. napon is vettünk mintát, azonban jelentős változás nem volt a korábbi CFU értékekhez képest. A 30°C-on nevelt növényekről a levélhullás és előregedés miatt nem lehetett már mintát gyűjteni 30 nap elteltével.

#### 4.4. Keresztezés eredményei

A négy rezisztens azonosító közül a *cbp1* és *cbp2* növényeinek apai partnerként való alkalmazásával végeztünk keresztezéseket. A *cbp1* és *cbp2* esetén is 5-5 db rezisztens növényt szelektáltunk. A keresztezésekben szenzitív anyai partnerként a PI 441537, PI 441597, PI 441557, PI 441526 és PI 441695 növények egyedeit alkalmaztuk.

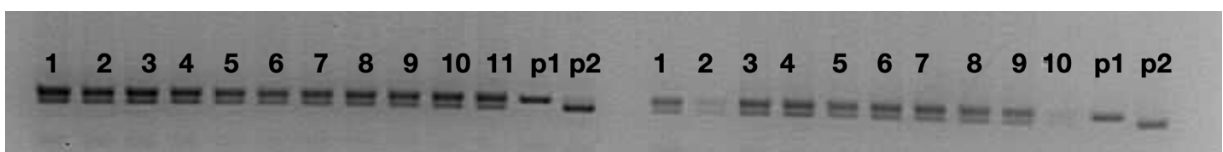
A keresztezések során 5 db *cbp1* azonosítójú szelektált szülő felhasználása esetén a *cbp1/1* és a *cbp1/4* esetén történt sikeresen a megtermékenyítés, míg az 5 db *cbp2* esetén a *cbp2/2*, *cbp2/3*, *cbp2/4* és a *cbp2/5* alkalmazásakor. A keresztezések partnereit a 22. ábra szemlélteti.

PI 441537 x cbp1/1  
 PI 441528 x cbp1/1  
 PI 441695 x cbp1/1  
 PI 441597 x cbp1/1  
 PI 441597 x cbp1/4  
 PI 441597 x cbp2/4  
 PI 441597 x cbp2/3  
 PI 441537 x cbp2/5  
 PI 441557 x cbp2/2  
 PI 441557 x cbp2/4

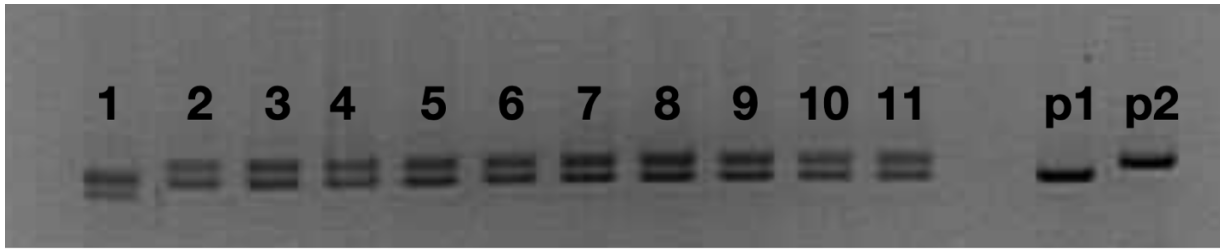
22. ábra Keresztezésekben használt azonosítók (sárga:cbp1, zöld:cbp2)

#### 4.5. Hibriditás ellenőrzés

A keresztezés során létrehozott F1 hibrid populáció hibriditásának ellenőrzésére és az esetlegesen nem hibrid egyedek szelektálására 91 darab *C. annuum*-ban leírt polimorf SSR és SNP markert teszteltünk. A tesztelt markerek közül 59 darab nem mutatott polimorfizmust 2,5%-os agaróz gélen a tesztelt növény állományunkban. 8 darab marker viszont polimorfizmust mutatott (23. ábra): a 90, 87, 85, 78, 75, 63, 46 és 18. Ezek közül a 18-as, valamint a 85-ös marker csak a cbp1 és cbp2 között mutatott polimorfizmust, míg a két keresztezési partner között monomorf mintázatot adott. 24 darab primer esetén nem kaptunk PCR terméket. Abban az esetben, ha a szülőktől eltérő méretű PCR terméket kaptunk, a növényt szelektáltuk (kizártuk a vizsgálatból), mint például a PI441537 x cbp1/1-es keresztezés 1. növénye esetén (24. ábra).

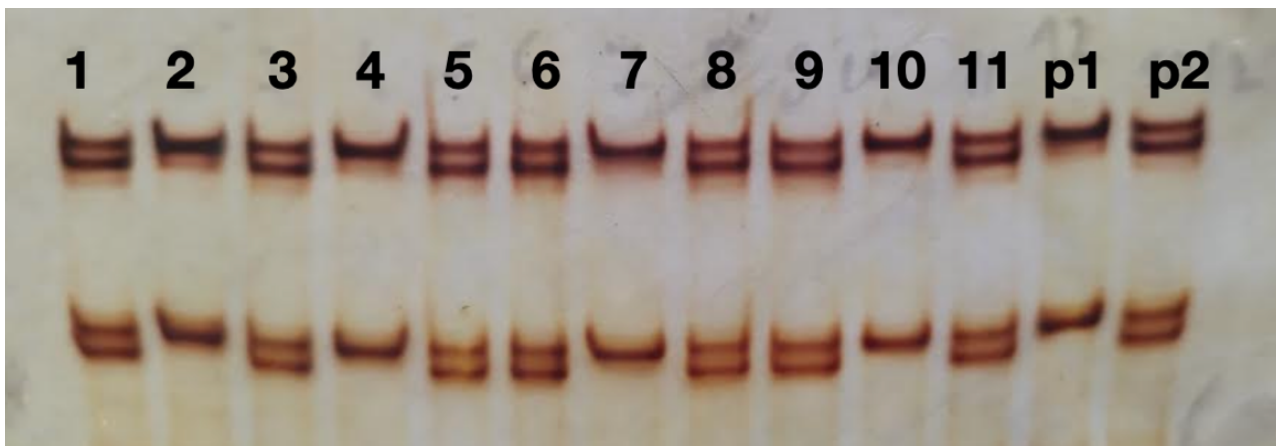


23. ábra PI 441597 x cbp2/4 és PI 441597 x cbp1/4 hibrid teszt elválasztása agaróz gélen, primer:78

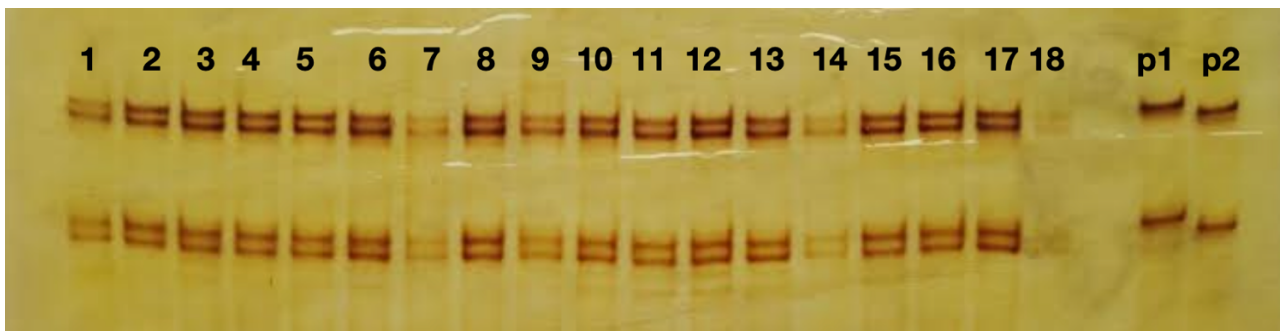


24. ábra PI 441537 x *cbp1/1* hibrid teszt elválasztása agaróz gélen, primer:78

Két keresztezési vonal esetén a tesztelt 91 primerrel, 2,5%-os agaróz gélen sem tudtunk polimorfizmust kimutatni a szenitív szülő valamint a rezisztens keresztezési partner között. Ebben az esetben SNP alapú polimorfizmus vizsgálatot alkalmaztunk, vagyis SSCP segítségével ellenőriztük a hibriditást. Ehhez a már előzetesen szelektált 8 db polimorf markert használtuk, ebből a 49-es primer alkalmas volt arra, hogy SNP alapú polimorfizmust mutassunk ki a két keresztezési partner között (25. ábra, 26. ábra).



25 ábra PI 441537 x *cbp2/2* hibrid teszt elválasztása SSCP gélen, primer:49



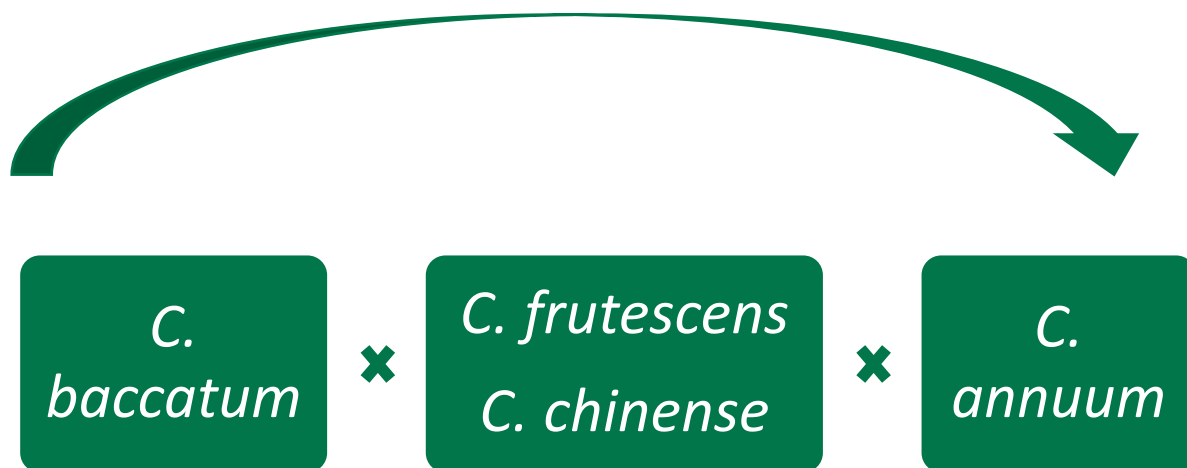
26. ábra PI 441537 x *cbp2/4* hibrid teszt elválasztása SSCP gélen, primer:49



A PI 441537 x *cbp2/2* keresztezés esetén, a rezisztens szülő maga is heterozigóta volt a kimutatandó SNP-re, ezért a nem heterozigóta F1 utódnövényeket szelektáltuk (kizártuk a további hibrid tesztelesekből).

## 5. Következtetések és javaslatok

A rezisztencia gének forrásának keresése elengedhetetlen a kórokozók és kártevők dinamikus terjedése miatt. A dolgozatban tárgyalt *Xanthomonas hortorum* pv. *gardneri*-vel szemben rezisztenciával rendelkező paprikák alapot biztosíthatnak a növénynemesítőknek és a kutatóknak egyaránt a *Xanthomonas* elleni küzdelemben. Az Európa szerte nagy mennyiségben termesztett *C. annuum* fajtákba *C. baccatum*-ból közvetlen keresztezéssel nem, vagy csak nagyon nehezen lehet átvinni rezisztencia géneket. Jelenlegi tudásunk szerint ezt kétféleképpen lehet elvégezni. Az egyik módszer szerint genetikai hídként *C. chinense* vagy *C. frutescens* felhasználásával történik a keresztezés (27. ábra), míg a másik módszer alkalmazásával *in vitro* embriómentés történhet egy *C. baccatum* és *C. annuum* között elvégzett keresztezés után.



27. ábra Interspecifikus keresztezés, genetikai híd faj alkalmazásával

A kutatócsoportunk jövőbeli célja, hogy mindkét ismert módszer alkalmazásával sikeresen tudjunk előállítani *Xhg* rezisztens *C. annuum* növényeket a szelektált szülővonalaink felhasználásával.

Továbbá terveink között szerepel, hogy az eddigi kísérleteink során előállított F1 hibridek felhasználásával létrehozunk F2 hasadó populációkat. Ezt követően klasszikus genetikai módszerek segítségével szeretnénk megvizsgálni a gén/gének öröklődéseinek tulajdonságait, valamint a molekuláris genetikai módszereit alkalmazva kívánjuk elkezdeni a rezisztenciáért felelős gén térképezését, azzal a céllal, hogy a nemesítők munkáját genetikai markerekkel is támogatni tudjuk.

## 6. Összefoglalás

A *Capsicum baccatum* a legszélesebb körben termesztett paprika faj Dél-Amerikában. A vad változatot *Capsicum baccatum* var. *baccatum*-nak, az ebből nemesített változatot pedig *Capsicum baccatum* var. *pendulum*-nak nevezik (Dewitt & Bosland, 2009). A növénynemesítőknek alapul szolgáló rezisztencia gének forrásai gyakran találhatóak meg a vad típusokban, ezért kiemelt figyelmet érdemelnek az ezzel kapcsolatos kutatások. A *Xanthomonas hortorum* pv. *gardneri* rezisztenciához kapcsolódó kísérletek paprikán korábban leginkább az Amerikai Egyesült Államokban problémát jelentő izolátumokra helyezték a hangsúlyt, azonban a dolgozat keretein belül az Európában és az USA-ban egyaránt problémát okozó baktériumtörzsekkel foglalkoztunk.

A vizsgálatok során bebizonyítottuk, hogy jelentős eltérés tapasztalható a génbanki tételek *Xhg* rezisztenciáját tekintve. A vizsgálataink során 119 *C.baccatum* azonosítót kettő baktérium izolátummal fertőztünk meg annak céljából, hogy megvizsgáljuk, milyen a fertőzésre adott fenotípusos reakciójuk, majd ebből tudjunk következtetni a rezisztencia jelenlétére. A vizsgált egyedekből 107 szenzitív tüneteket mutatott, ebből arra tudtunk következtetni, hogy nem rendelkeznek *Xhg* ellen hatásos rezisztenciával. A részleges rezisztencia tüneteit nyolc azonosító növényei mutatták vagy az egyik vagy a másik baktérium izolátummal szemben, míg a teljes rezisztencia jeleit négy azonosító növényei produkálták mindkét izolátummal szemben. A négy rezisztens fenotípussal rendelkező azonosítót további baktériumtörzsekkel fertőztük meg (*Xg* 51, *Xg* 152, *Xg* 153, *Xg* 156, *Xg* 177)) a rezisztencia spektrumának vizsgálata céljából. A kiértékelések során egyöntetűen rezisztens fenotípust mutattak a növények az öt további *X. gardneri* izolátumra is.

A vizsgálatok további részében a potenciálisan rezisztenciával rendelkező négy azonosító növényei vettek részt. A növények növénynevelő kamrában nevelkedtek kontrollált körülmények között. A mesterséges fertőzés után a fertőzött levelekből baktérium szuszpenziót készítettünk, majd azt tapasztaltuk, hogy a baktériumtelepek számának alakulása szignifikáns különbséget mutatott a szenzitív és a rezisztens növények között.

A PCR vizsgálatok során összesen 91 darab primert teszteltünk, amelyekből 8 primer volt alkalmazható a *C.baccatum* szelektált szülővonalaink közötti különbség kimutatására.

Keresztezéseink során 36 kombinációból 10 esetben sikerült magot hozó termést nevelni, amelyek hibriditását molekuláris genetikai módszerekkel ellenőriztünk.

Összességében el lehet mondani, hogy a vizsgált növényazonosítók 6%-ában izolátum-specifikus rezisztenciát találtunk, ami egy-egy baktériumtörzsre nézve nyújt csak védelmet a növény számára. Továbbá a vizsgált növényazonosítók csupán 3%-ban volt jelen nem izolátum-specifikus a védelem, ami értelmében baktériumtörzstől függetlenül *Xhg* rezisztenciával rendelkezik a szelektált növény.

## 7. Köszönetnyilvánítás

Köszönetet szeretnék mondani a Magyar Agrár-és Élettudományi Egyetem Genetika és Biotechnológia Intézet- Alkalmazott Növénygenomikai Csoportjának, hogy biztosították számomra a lehetőséget a diplomadolgozatomhoz szükséges kísérletek elvégzéséhez. Hálás vagyok Dr. Tóth Zoltánnak, hogy koordinálta munkámat és hasznos szakmai tanácsokkal látott el. Tóth Zoltán Gábor PhD hallgatónak különösen köszönöm a türelmét és idejét, amit rám fordított annak érdekében, hogy a kísérletek kivitelezése precízen történjenek. Bármikor kérdésem merült föl, vagy elakadtam egy folyamatban, mindig gyors, megbízható segítséget kaptam. Emellett köszönöm szépen a kutatócsoport többi tagjának is, hogy segítőkészek és befogadóak voltak velem. A kellemes légkör és a vidám hangulat motivált a labortevékenységeim során.

Továbbá köszönöm szépen a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Növényvédelmi Intézet részéről Dr. Turóczi Györgynek a szakmai segítségét.

## 8. Irodalomjegyzék

- Araújo ER, Pereira RC, Moita AW and Quezado-Duval AM (2011) Effect of Temperature on Pathogenicity Components of Tomato Bacterial Spot and Competition between *Xanthomonas Perforans* and *X. Gardneri*, *Acta Horticulturae* 914 3
- Astua Monge, G. , Minsavage, G.V., Stall, R.E., Vallejos, C.E. , Davis, M.J. & Jones, J.B. (2000) Xv4 vrxv4: A new gene for gene interaction identified between *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* race T3 and the wild tomato relative *Lycopersicon pennellii* . *Molecular Plant Microbe Interactions*, 13, 1346–1355.
- Balázs S. (1994): Zöldségtermesztők kézikönyve, Mezőgazda Kiadó, Budapest, 694 p
- Bán G, Nagy A., Zrubecz P. és Tóth F. (2007): Első ta- pasztalatok a közönséges karolópók (*Xysticus kochi* Thorell) nyugati virágtripsz (*Frankliniella occidentalis* Pergande) elleni felhasználásáról üze- mi méretű hajtatott paprikában. *Növényvédelem*, 43 (5): 169–174
- Bashan, Y.; Diab, S.; Okon, Y. (1982) Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in pepper seeds and roots, in symptomless and dry leaves in non-host plants and in the soil. *Plant and Soil* 68, 161-170.
- Beckmann JS, Soller M (1986) Restriction fragment length polymorphisms and genetic improvement of agricultural species. *Euphytica* 35:111-124
- Bianchetti, B.L.- Barboza, G.E. (2005): Three new species of *Capsicum* (Solanaceae) and a key to the wild species of Brasil. *Systematic Botany* 30(4):863-871
- Bozsik, A. (2011). Occurrence of the tulip tree aphid (*Illinoia liriodendri* Monell, 1879 (Hemiptera: Aphididae) in Hungary. *Acta Agraria Debreceniensis*, (43), 93–96.
- Cselőtei L.-Nyújtó S.-Csáky A. (1993): Kertészet. Mezőgazda Kiadó, Budapest. 193-196.p.
- De Candolle, A. (1894): Termesztett növényeink eredete. Természettudományi Társaság, Budapest. Kézirat.
- Dewitt, D.; Bosland, P.W. (2009) *The Complete Chile Pepper Book—A Gardener’s Guide to Choosing, Growing, Preserving and Cooking*; Timber Press: Portland, OR, USA: p. 336.
- Dowson, W.J. (1939) On the systematic position and generic names of the Gram negative bacterial plant pathogens. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten*, 2, 100, 177–193.
- EPPO (2013) *Xanthomonas* spp. (*Xanthomonas euvesicatoria*, *Xanthomonas gardneri*, *Xanthomonas perforans*, *Xanthomonas vesicatoria*) causing bacterial spot of tomato and sweet pepper. *EPPO Bulletin*, 43, 7–20.
- G.S. Nemesthoty, D.I. Guest (1990) Phytoalexin accumulation, phenylalanine ammonia lyase activity and ethylene biosynthesis in fosetyl-Al treated resistant and susceptible tobacco cultivars infected by *Phytophthora nicotianae* var *nicotianae* *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 37 , pp. 207-219
- Gardner, M.W. & Kendrick, J.B. (1921) Bacterial spot of tomato. *Journal of Agricultural Research*, 21, 123–156.

- Hadrys, H., Balick, M and Schierwater, B. (1992). Molecular Ecology, Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology 1: 55-63.
- Hajósné Novák, M. (szerk.). (1999). Genetikai variabilitás a növénynevelésben - Molekuláris diagnosztika. Budapest., Mezőgazda Kiadó, 142
- Houten van Y. M., Ostlie M. L., Hoogerbrugge H. and Bolckmans, K. (2005): Biological control of western flower thrips on sweet pepper using the predatory mites *Amblyseius cucumeris*, *Iphiseius degenerans*, *Amblyseius andersoni* and *Amblyseius swirskii*. IOBC/WPRS Bulletin, 28: 283–286.
- Idrees, M., & Irshad, M. (2014). Molecular Markers in Plants for Analysis of Genetic Diversity : A Review.
- Jones JB, Minsavage GV, Roberts PD, et al (2002) A Non-Hypersensitive Resistance in Pepper to the Bacterial Spot Pathogen Is Associated with Two Recessive Genes. *Phytopathology* 92:273–277
- Kato, T.-Tanaka, M. (1971): Studies on the fruit setting and development of sweetpeppers. I. Fruiting behavior. *JSHS*. Tokyo. 40. 359-366
- Klement Z, Farkas GL, Lovrekovich L. (1964) Hypersensitive reaction induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. *Phytopathology* 54:474–477.
- Klement Zoltán (2004): Védekezési mechanizmusok az élővilágban, *Magyar Tudomány*,2004/10 1108.
- Knapp, M (2000) Important mite crop pest in Africa. XI international Congress of Acarology, Merida, Mexico
- Konieczny A, Ausubel FM. (1993): A procedure for mapping *Arabidopsis* mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. *Plant J.* (2):403-10.
- Ma X, Lewis Ivey ML and Miller SA (2011) First Report of *Xanthomonas Gardneri* Causing Bacterial Spot of Tomato in Ohio and Michigan. *Plant disease* 95 12:1585
- Minsavage, G. V., Dahlbeck, D., Whalen, M. C., Kearney, B., Bonas, U., Staskawicz, B. J., and Stall, R. E. (1990) Gene-for-gene relationships specifying disease resistance in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*–pepper interactions. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 3:41-47.
- Morinière, L. , Buret, A. , Rosenthal, E.R. , Nesme, X. , Portier, P. , Bull, C.T. (2020) Clarifying the taxonomy of the causal agent of bacterial leaf spot of lettuce through a polyphasic approach reveals that *Xanthomonas cynarae* Trébaol *et al.* 2000 emend. Timilsina *et al.* 2019 is a later heterotypic synonym of *Xanthomonas hortorum* Vauterin *et al.* 1995. *Systematic and Applied Microbiology*, 43, 126087.
- Mullis, K.B., Faloona, F.A. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.* 155: 335-350.
- Murashige T, Skoog F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*; 15: 473-497.

- Neha Potnis, Sujan Timilsina, Amanda Strayer, Deepak Shantharaj, Jeri D. Barak, Mathews L. Paret, Gary E. Vallad, and Jeffrey B. Jones (2015) Bacterial spot of tomato and pepper: diverse *Xanthomonas* species with a wide variety of virulence factors posing a worldwide challenge
- Nema, K.G.; Mahmud, K.A.(1951) Damping-off of chilli seedlings in Madhya Pradesh due to *Pythium aphanidermatum*. Mag. Nagpuragric. Coll, 25, 10–12.
- Newberry, E.A. , Bhandari, R. , Minsavage, G.V. , Timilsina, S. , Jibrin, M.O. , Kemble, J. *et al.* (2019) Independent evolution with the gene flux originating from multiple *Xanthomonas* species explains genomic heterogeneity in *Xanthomonas perforans* . *Applied and Environmental Microbiology*, 85
- Obradovic, A., Jones, J.B., Momol, M.T., Olson, S.M., Jackson, L.E., Balogh, B. *et al.* (2005) Integration of biological control agents and systemic acquired resistance inducers against bacterial spot on tomato. *Plant Disease*, 89, 712–716.
- Ochman H, Gerber AS, Hartl DL. (1988) Genetic applications of an inverse polymerase chain reaction. *Genetics*.;120(3):621–623.
- Osdaghi, E., Jones, J. B., Sharma, A., Goss, E. M., Abrahamian, P., Newberry, E. A., Vallad, G. E. (2021). A centenary for bacterial spot of tomato and pepper. *Molecular Plant Pathology*. 22 (12), 1500.
- Paran, I. and Michelmore, R.W. (1993). Development of reliable PCR based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce, *Theoretical and Applied Genetics*, 85: 985-993.
- Príncipe A, Fernandez M, Torasso M, Godino A, Fischer S. (2018). Effectiveness of tailocins produced by *Pseudomonas fluorescens* SF4c in controlling the bacterial-spot disease in tomatoes caused by *Xanthomonas vesicatoria*. *Microbiological Research*, 212-213:94-102.
- Reddy, M.P., Sarla, N., Siddiq, E.A., )2002). Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128, 917.
- Reisinger P, (1996). Weed flora and weed elimination in field-grown capsicum pepper. (A szántóföldi paprika gyomnövényzete és gyomirtása.). *Növényvédelem*. 32 (6), 307-308.
- Ríos-Sandoval, M., Quiñones-Aguilar, E.E., Solís-Sánchez, G.A., Enríquez-Vara, J.N. & Rincón-Enríquez, G. (2020) Complete genome sequence of *Xanthomonas vesicatoria* bacteriophage  $\Phi$ XaF18, a contribution to the biocontrol of bacterial spot of pepper in Mexico. *Microbiology Resource Announcements*, 9, e00213-20.
- Ripka G. (2009): *Növényvédelmi akarológia. Kártevô és hasznos atkák*. Agroinform Kiadó, Budapest: 59–92.
- Rotenberg, D., Jacobson, A. L., Schneweis, D. J., & Whitfield, A. E. (2015). Thrips transmission of tospoviruses. *Current Opinion in Virology*, 15, 80–89.
- Santos, L.V.S. , Melo, E.A. , Silva, A.M.F. , Félix, K.C. , Quezado Duval, A.M. , Albuquerque, G.M. *et al.* (2020) Weeds as alternate hosts of *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* and *X. campestris* pv. *campestris* in vegetable growing fields in the state of Pernambuco, Brazil. *Tropical Plant Pathology*, 45, 484–492.



- Schlötterer C. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma*. 2000;109:365–371.
- Sharma A, Minsavage GV, Gill US, Hutton SF, Jones JB. (2022) Identification and Mapping of bs8, a Novel Locus Conferring Resistance to Bacterial Spot Caused by *Xanthomonas gardneri*. *Phytopathology*. 112, 1640-1650
- Somos A. (1981): A paprika Akadémia kiadó, Budapest, 153-156.
- Song, S. , Zhang, Y. , Liu, H. , Pan, C.Q. , Yang, M.X. , Ding, J.F. *et al.* (2019) Isolation and characterization of *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* causing bacterial spot in *Physalis pubescens* in northeast China. *Journal of Plant Pathology*, 101, 361–366.
- Stall RE, Jones JB, Minsavage GV (2009) Durability of Resistance in Tomato and Pepper to *Xanthomonas* Causing Bacterial Spot. *Annu Rev Phytopathol* 47:265–284..
- Šutic, D. (1957) Bakterioze crvenog patlidzana [Tomato bacteriosis]. In: Institut za Zastitu Bilja, vol. 6. Beograd: Institute of Plant Protein, 1–65 (English summary: *Rev App Mycl* 36:734-735).
- T., Tóth, F. (2009). A Trifender (*Trichoderma asperellum*) hatása a szabadföldi gyökérgubacs-fonálféreg (*Meloidogyne hapla* Chitwood) paprikában okozott kártételének mértékére. *Növényvédelem* 45 (10): 535-541
- Tégla Zs.-Deme P.-Balogh Zs. (2006):A paprikahajtás gazdaságossága – kulskérdés az energia. *Kertészet és Szőlészet*. 55 (7) 6-7.p.
- Terbe I.-Hodossi S.-Kovács A.(2005): Zöldségtermesztés termesztőberendezésekben. *Mezőgazda Kiadó, Budapest*. 53 135
- Terbe, I., Slezák, K. (szerk.) (2008). Talaj nélküli zöldségajtatás. *Mezőgazda Kiadó, Budapest*.
- Timilsina, S., Jibrin, M.O. , Potnis, N. , Minsavage, G.V. , Kebede, M. , Schwartz, A. *et al.* (2015) Multilocus sequence analysis of *xanthomonads* causing bacterial spot of tomato and pepper plants reveals strains generated by recombination among species and recent global spread of *Xanthomonas gardneri* . *Applied and Environmental Microbiology*, 81, 1520–1529.
- Tóth E. K., Folk Gy. és Ördögh G. (2000): A krizantém védelme. *Növényvédelem*, 36 (9): 477-495.
- Tóth, Z.G.; Tóth, M.; Fekete, S.; Szabó, Z.; Tóth, Z. Screening Wild Pepper Germplasm for Resistance to *Xanthomonas hortorum* pv. *gardneri*. *Sustainability* 2023, 15, 908. <https://doi.org/10.3390/su15020908>
- Újvárosi Miklós,(1973) GYOMNÖVÉNYEK, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 833,
- Vallejos, C. E., Jones, V., Stall, R. E., Jones, J. B., Minsavage, G. V., Schultz, D.C., Rodrigues, R., Olsen, L. E., Mazourek, M. (2010). Characterization of two recessive genes controlling resistance to all races of bacterial spot in peppers.
- Vavilov, N. I. (1927). “Universal centers of a wealth of types (genes) of cultivated plants” in *Origins and geography of Cultivated Plants*, Cambridge Univ. Press, 144-157.

Vojnich, Viktor József és Palkovics, András és Pető, Judit és Hüvely, Attila (2015) Paprika (*Capsicum annum* L.) palánta fejlődésének vizsgálata vírusvektorral szennyezett kőgyapot közegen GRADUS, 2 (1). 178-184

Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. and Zabeau, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acid Research*, 23: 4407-4414.

Young, J.M. , Dye, D.W. , Bradbury, J.F. , Panagopoulos, C.G. & Robbs, C.F. (1978) A proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 21, 153–177.

Zeng, X., Luo, Y., Vu, N. T. Q., Shen, S., Xia, K., and Zhang, M. (2020). CRISPR/Cas9- mediated mutation of OsSWEET14 in rice cv. Zhonghua11 confers resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* without yield penalty. *BMC Plant Biol.* 20:313.

Zentai Á., Orosz R., Izbéki A. és Gilingerné P. M. (2006): Az integrált termesztés eszközei – Biológiai növényvédelem a zöldségajtatásban. In: Gilingerné P. M., Zentai Á.: Biológiai növényvédelem a zöldségajtatásban. Árpád Biokontroll, 2003 Kft, Szentes: 4–8.

## **Internetes linkek**

http1: <https://dea.lib.unideb.hu/dea/handle/2437/91345> 2023-03-25

http2: [https://www.ksh.hu/stadat\\_files/mez/hu/mez0024.html](https://www.ksh.hu/stadat_files/mez/hu/mez0024.html) 2023-02-11

http3: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/epp.12018> 2023-04-11

http4: <https://gd.eppo.int/taxon/XANTGA/categorization> 2023-04-19

http5:[https://worldseed.org/wp-content/uploads/2019/09/Pepper-bacterial-spot\\_July2019\\_Final.pdf](https://worldseed.org/wp-content/uploads/2019/09/Pepper-bacterial-spot_July2019_Final.pdf) 2023-04-01  
http6: <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/PP362> 2023.01.01

http7:<https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/prokaryote/pdlessons/Pages/Bacterialsport.aspx> 2023-04-19

http8: <https://mek.oszk.hu/15400/15419/15419.pdf> 2023-04-19

## NYILATKOZAT

a záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió<sup>1</sup> nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: URBAN GYÖRGY  
A Hallgató Neptun kódja: EYGBKU  
A dolgozat címe: XANTHOMONAS HORTORUM PV. GARDNERI BAKTÉRIUM ELLEN  
REZISZTENCIÁT BIZTOSÍTÓ GÉNEK AZONOSÍTÁSA PÁPRILYBAN  
A megjelenés éve: 2023.  
A konzulens tanszék neve: SZIC, NÖVÉNYVÉDELMI INTÉZET

Kijelentem, hogy az általam benyújtott záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió<sup>2</sup> egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, s az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a Záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemitulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe.

Kelt: Gödöllő, 2023. év május hó 2. nap

Hallgató aláírása

<sup>1</sup> A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

<sup>2</sup> A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

## KONZULTÁCIÓS NYILATKOZAT

A URBAN GÖRGT (név) (hallgató Neptun azonosítója: E1GBKU)  
konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a  
záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfólió<sup>1</sup> áttekintettem, a hallgatót az  
irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól  
tájékoztattam.

A záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót a záróvizsgán történő védeésre  
javaslom / nem javaslom<sup>2</sup>.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem<sup>\*3</sup>

Kelt: Gödöllő, 2023 év május hó 2 nap

  
Belső konzulens

<sup>1</sup> A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

<sup>2</sup> A megfelelő aláhúzendó.

<sup>3</sup> A megfelelő aláhúzendó.