

Szegedi Ernő

SZŐLŐFAJTÁK ÉS HIBRIDEK AGROBACTERIUM TUMEFACIENS
ÉRZÉKENYSÉGE

Doktori értekezés

Kertészeti Egyetem Szőlészeti és Borászati
Kutató Intézete

Kecskemét - Kisfái

1983

TARTALOM

1.	BEVEZETÉS	2
1.1.	Az Agrobacterium fajok kártételének jelentősége . . .	2
1.2.	A kórokozó taxonómiája	3
1.3.	A Ti-plazmid	5
1.4.	A kórfolyamat	7
1.5.	További mikrobiális eredetű növényi tumorok	10
1.6.	Egyéb tumorindukáló tényezők	11
1.7.	A védekezés lehetőségei	11
1.8.	Célkitűzés	13
2.	ANYAG ÉS MÓDSZER	14
3.	EREDMÉNYEK	22
3.1.	A szőlőről izolált A. tumefaciens törzsek biokémiai sajátságai, gazdanövényköre	22
3.2.	Rezisztenciaszelekciós kísérletek	24
3.3.	Az ellenállóképesség törzsspecifikus tulajdonság . .	25
3.4.	A rezisztencia öröklésmenete	27
4.	MEGVITATÁS	31
4.1.	Az Agrobacterium izolátumok taxonómiai jellemzése . .	31
4.2.	A rezisztencianemesítés lehetőségei a szőlő golyvás betegségének megelőzésében	34
5.	ÖSSZEFOGLALÁS	40
6.	IRODALOM	42
7.	FOTOMELLÉKLET	53

1. BEVEZETÉS

1.1. Az Agrobacterium fajok kártételének jelentősége

A növényi tumorokról az első leírás Arisztotelész-től származik /DRUMMOND 1979/. A kórokozót a múlt század végén az olasz CAVARA izolálta /LEHOCZKY 1968/, majd mintegy másfél évtizeddel később amerikai kutatók azonosították /SMITH and TOWNSEND 1907/. A három patogén Agrobacterium faj közül az A. rubi a málnát, az A. rhizogenes pedig az almát fertőzi. Legszélesebb gazdanövénykörrel az A. tumefaciens rendelkezik, melynek kártételét eddig mintegy negyven gazdaságilag jelentős növényfajon irták le /KLEMENT 1965, DE CLEENE 1979/.

A szőlő golyvás betegsége /crown-gall/ hazánkban és a környező országokban jelentős szerepet játszik az ültetvények tőkepusztulásának előidézésében. A kártétel elsősorban a széles sortávu, magasművelésű ültetvényekben jelentős, ahol a hektáronkénti egyedszám a korábbi 8-10 ezerrel szemben 2-3 ezerre csökkent, így egy-egy szőlőtőke termesztési értéke nagymértékben megnövekedett. A tőke legyengülésének, elhalásának elsődleges oka a tápanyagszállítás akadályozása /l. kép/, mivel a kambiális eredetű tumorképződés ronsolja a gazdanövény edénnyalábrendszerét. Magyarországon a betegség előfordulását, kártételét LEHOCZKY /1968/ közölte. Bulgáriában RAJKOV /1967/, Jugoszláviában ARSENIJEVIC et al. /1974/, Szovjetunióban LEMANOVA /1979/, Kanadában

CHAMBERLAIN /1962/ írta le a golyvás betegség előfordulását, növényvédelmi jelentőségét. A betegség megnyilvánulását az erős téli fagyhatás nagymértékben elősegíti, mivel kedvez a sérülések létrejöttének /LEHOCZKY 1968/. A fagyhatáson kívül szerepe van a talaj nedvességtartalmának is, mely pozitívan befolyásolja a növény vízfelvételét. Tavasszal a hirtelen meginduló nedvkeringés, valamint a kambióális sejtek osztódása ezért szintén mikrorepedéseket okozhat az edénnyalábokban /CHAMBERLAIN 1962/.

A kártétel a szőlőn kívül különösen jelentős még a málna /SÜLE és KOLLÁNYI 1977/, valamint a gyümölcsfák esetében /MOORE and WARREN 1979/. A golyvás betegség által okozott gazdasági veszteség világviszonylatban évente mintegy 150 millió dollár /EL-FIKI and GILES 1981/.

1.2. A kórokozó taxonómiája

Az *Agrobacterium* nemzetség tagjai Gram-negatívak, spórát nem képeznek. Méretük 0,5-0,8 x 1,5-3 mikron, 1-4 flagellummal rendelkeznek. Hústáptalajon fehér, gyöngyházfényű telepeket képeznek. Az "A" csoportba tartozó *A. radiobacter* és *A. tumefaciens* 3-ketolaktóz pozitív, az előbbi apatogén faj, míg az *A. tumefaciens* tumort indukál /crown gall/. A "B" csoportba tartozó kettő faj 3-ketolaktóz negatív. Az *A. rhizogenes* a szőrösgyökerűség /hairy-root/, az *A. rubi* pedig a málna golyvás betegségének /cane-gall/ okozója /ALLEN and HOLDING 1974/. HOLMES és



ROBERTS /1981/ biokémiai sajátosságok alapján az előbbi fajmegjelölést használta, de az *A. radiobacter* az *A. tumefaciens*-el egy fajba sorolja. Más szerzők az *Agrobacterium tumefaciens*-t három biotípusra osztják. Az 1. biotípusú törzsek 3-ketolaktóz és melecitóz pozitívak, L/+ tartarát, malonát és m-erythrit negatívak. A 2. biotípus a fenti sajátosságokban eltér az 1. biotípustól. A 3. biotípusba tartozó törzsek hasznosítják az L/+ tartarátot és malonátot, mint egyedüli szén-, és energiaforrást, de m-erythrit, melecitóz és 3-ketolaktóz negatívak /PANAGOPOULOS and PSALLIDAS 1973, KERR and PANAGOPOULOS 1977, SÜLE 1978a/. Az 1. és 2. biotípus biokémiai sajátosságait tekintve azonos KERSTERS et al. /1973/ 1. és 2. csoportjával. Ujabb taxonómiai tanulmányok alapján a korábban leírt fajok besorolhatók a fenti három biotípusba. LIPPINCOTT et al. /1981/, valamint HOLMES and ROBERTS /1981/ szerint az *A. radiobacter* - *A. tumefaciens* az 1., az *A. rhizogenes* a második, az *A. rubi* pedig a 3. biotípusba tartozik, de ez sem tekinthető általános érvényűnek.

Szőlőn világviszonylatban a 3. biotípus a domináns, melyet a fenti biokémiai sajátosságok mellett a szűk gazdanövénykör jellemez /LOUBSER 1978, SÜLE 1978a, PANAGOPOULOS et al. 1978, THOMASHOW et al. 1980, PERRY and KADO 1982, BURR and KATZ 1983/. A 3. biotípusú törzsek szőlőn való dominanciájában valószínűleg szerepet játszik az L/+ tartarát hasznosítás /SÜLE, személyes közlés/, mely minden-

képpen ökológiai előnyt jelent az L/+/ tartarát negatív 1. biotípussal szemben. Azt azonban nem tudjuk, hogy a szintén L/+/ tartarát pozitív 2. biotípus miért nem, vagy csak nagyon ritkán okoz természetes fertőzést szőlőn.

1.3. A Ti-plazmid

A baktérium patogenitásáért a Ti- /Tumor inducing/ plazmid felelős, melynek molsúlya 90-150 MD között van, *A. tumefaciens* törzstől függően /ZAENEN et al. 1974, VAN LAREBEKE et al. 1974, 1975, WATSON et al. 1975/. A Ti-plazmid a tumorindukáló képességen kívül a következő sajátságokat kódolja:

1./ Opin szintézis /a tumorszövetben/ és hasznosítás egyedüli szén-, nitrogén-, és energiaforrásként. Az opin-marker alapján három Ti-plazmid típus ismert, mint oktopin, nopalin, agropin típus /BOMHOFF et al. 1976, GUYON et al. 1980, TEMPÉ and PETIT 1982/.

2./ A megfelelő típusú opinok indukálják a Ti-plazmidok konjugatív aktivitását. Az oktopin az oktopin-típusét, az utóbbi időben kimutatott agrocinopin A és B a nopalin-, az agrocinopin C és D pedig az agropin-típusú Ti-plazmidok konjugatív aktivitását indukálja /GENETELLO et al. 1977, PETIT et al. 1978, HOOYKAAS et al. 1979, ELLIS and MURPHY 1981, ELLIS et al. 1982/.

3./ Az arginin hasznosítás az oktopin és nopalin típusú törzsek általános sajátsága /ELLIS et al. 1979/.

4./ A gazdanövénykör meghatározásáért felelős gének a Ti-plazmidon lokalizálnak /LOPER and KADO 1979, THOMAS-HOW et al. 1980/.

5./ A nopalin típusú törzsek érzékenyek az agrocin 84-el szemben, melyet a 2. biotípusba tartozó apatogén *A. radiobacter* K84 termel /ENGLER et al. 1975/.

6./ Néhány patogén törzs specifikus endonukleázt termel, mely nem mutatható ki a plazmid-törölt származékaikban /ROIZES et al. 1979/.

7./ A patogén *A. tumefaciens* törzsek auxint és cito-kinint termelnek /CLAEYS et al. 1978, LIU and KADO 1979, REGIER and MORRIS 1982/.

8./ Az AP-1 fág kizárása kimutatható a C-58 törzsben, de ennek plazmid-törölt C-58-C9 származékán nem /SCHELL 1975/.

9./ Valamennyi oktopin és nopalin típusú plazmid az Rh-1 inkompatibilitási csoportba tartozik, míg az agropin-típusúak az Rh-2-be /NESTER and KOSUGE 1981/.

10./ A baktériumsejt kötődésében a gazdanövény sejt-falához /a transzformációt megelőzően/, szintén szerepet játszik a Ti-plazmid /MATTHYSSE et al. 1978, 1981, WHATLEY et al. 1978/.

A Ti-plazmidon kívül a kromoszómális "háttér" is szerepet játszik a patogenitás meghatározásában. A transzpozon /Tn5/- inszercióval kapott kromoszómális mutánsok egy része apatogén volt, vagy redukálódott a gazdanövény-

körük /DELLAPORTA and PESANO 1981, NESTER and KOSUGE 1981, DOUGLAS et al. 1982/. Hasonló eredményeket kaptak, amikor ugyanazt a Ti-plazmidot átvitték különböző kromoszómával rendelkező plazmidtörölt *A. tumefaciens* törzsekbe /KNAUF et al. 1982/. A kromoszómális háttér jelentőségének további bizonyítéka, hogy a Ti-plazmiddal transzformált *E. coli* nem képes tumort indukálni sem a megfelelő opint hasznosítani /HOLSTERS et al. 1978/.

1.4. A kórfolyamat

A baktérium szisztémikusan terjed a gazdanövényben /LEHOCZKY 1971, 1978, TURGEON 1982/. A tumorképzés előfeltételeként a gazdanövényen sérülésnek kell létrejönnie, melynek pontos szerepe nem tisztázott. A baktérium ezt követően kötődik a gazdanövény sejtfalához, ahol cellulóz fibrillumok képzése közben tovább osztódik /LIPPINCOTT and LIPPINCOTT 1975, SCHILPEROORT and BOMHOFF 1975, GLOKOWSKI and GALSKY 1978, OHYAMA et al. 1979, MATTHYSSE et al. 1981/. A növényi sejtfalalkotók közül a pektinnek van szerepe a kötődésben /RAO et al. 1982/. A baktérium sejtfalalkotói közül pedig a lipopoliszaharid frakció /WHATLEY et al. 1976/, ezen belül az N-acetyl-D-galaktoz-amin és β -D-galaktoz /BANERJEE et al. 1981/ jelentősége bizonyított a baktérium-gazdasejt kapcsolat létrejöttében.

A transzformációs folyamatot a 32-37 °C-os hőmérséklet gátolja, annak ellenére, hogy a fenti hőmérsék-

leten a baktérium és a növényi szövet képes osztódni /BRAUN and STONIER 1958, BRAUN 1978/. A termoszenzitiv fázis a Ti-plazmid által determinált /ROGLER 1980/. A bakteriális konjugáció és a plazmid replikáció szintén hőérzékeny /SCHELL 1975, TEMPÉ et al. 1977/. Termoszenzitiv törzzsel indukált tumorszövet 37 °C-on elveszíti tumoros sajátosságát /EINSET and CHENG 1979~~9~~.

A transzformációt követően a bakteriális eredetű DNS, mely a Ti-plazmidnak egy 11-15 MD mólsúlyú része /T-régió/ kovalens kötéssel integrálódik a gazdanövénysejt kromoszómális DNS-ébe, ahol átíródik /MATTHYSSE and STUMP 1976, DRUMMOND et al. 1977, CHILTON et al. 1977, GURLEY et al. 1979, CHILTON et al. 1980, LEMMERS et al. 1980, MCPHERSON et al. 1980, THOMASHOW et al. 1980, YANG et al. 1980, WILLMITZER et al. 1980, YADAV et al. 1980, ZAMBRISKY et al. 1980, MURAI and KEMP 1982, WILLMITZER et al. 1982/. A T-régió a baktériumsejtben szintén átíródik /GELVIN et al. 1981, SCHRÖDER et al. 1983/. A T-DNS átírását az α -amanitin gátolja, ami arra utal, hogy az átírásért a gazdasejt RNS-polimeráz II. a felelős /WILLMITZER et al. 1981/.

Az emlős tumorvirusok egy része /SV-40, Polyoma-virus, Adenovirusok/ szintén integrálódnak a gazdasejt kromoszómális DNS-ébe /CROCE 1981/. A Herpes Simplex Virus viszont csak a tumor - iniciáció alatt mutatható ki, később nem található HSV homológ DNS-szekvencia a

gazdasejt genomjában /"hit-and-run" mechanizmus/. A HSV valószínűleg onkogén mutációt idéz elő, ezért marad fenn a tumoros állapot a vírus DNS jelenléte nélkül /GALLOWAY and MCDOUGALL 1983/.

A transzformált növényi szövet képes növekedni hormonmentes táptalajon /BRAUN 1978/. További specifikus sajátossága az opin szintézis, mely a tumort indukáló A. tumefaciens törzs által determinált /BOMHOFF et al. 1976, SCOTT et al. 1979, GUYON et al. 1980, MURAI and KEMP 1982/. Mint korábban említettem, három opin típus, ezeken belül több rokon vegyület ismert. Az oktopin és rokon vegyületei aminósav + piruvát, a nopalin típusú opinok aminósav + α -ketoglutarát, az agropin típusú vegyületek pedig aminósav + 6 C-atomos cukormolekulák kondenzációs termékei. Az agropint az oktopin és a korábban O-típusnak nevezett törzsekkel /agropin-típus/ indukált tumorszövetekben mutatták ki /FIRMIN and FENWICK 1978, COXON et al. 1980, GUYON et al. 1980, TEMPÉ and GOLDMANN 1982/.

A nopalin típusú törzsekkel indukált tumorok, gazdanövénytől függően gyakran képeznek hajtásszerű képleteket, ún. teratómákat, melyek rezisztensek a felülfertőzésre BRAUN 1948, BRAUN 1953, BRAUN and WOOD 1976, EINSET and CHENG 1979, GRESSHOFF et al. 1979/. In vitro körülmények között oktopin típusú törzsekkel indukált dohány tumorszövetnél, valamint normál és tumorsejt fúziós termékeknél is tapasztaltak teratóma képződést /MÁRTON et al. 1979, WUL-

LEMS et al. 1980, OWENS 1982/.

Az *Agrobacterium tumefaciens* képes tumort indukálni a legtöbb kétszikű növényen, de a törzsek gazdanövénykörében jelentős eltérések vannak /DE CLEENE and DE LEY 1976, PANAGOPOULOS et al. 1978, ANDERSON and MOORE 1979/.

Az *A. tumefaciens* széles gazdanövényköre, valamint a kórfolyamat transzformációs jellege miatt a Ti-plazmid a növényi transzformációs kísérletek potenciális vektora /HOOYKAAS et al. 1978, DRUMMOND 1979, VAN MONTAGU et al. 1980, REAM and GORDON 1982, LEEMANS et al. 1982, ROBERTS 1982/.

1.5. További mikrobiális eredetű növényi tumorok

A Tobacco Tumor Virus /TTV/ dohányon okoz tumort /MISRA and NIENHAUS 1977/. A reovirusok közül a Wound Tumor Virus mintegy 50 kétszikű növényfajt fertőz. A többi fitopatogén reovirus az egyszikűeken okoz tumorképződést /SHIKATA 1981/.

A *Corynebacterium fascians* Dahlia-n, Petunia-n, a *Pseudomonas savastanci* oliván és oleanderen indukál golyvás tüneteket /WILSON and MAGIE 1964, KLEMENT 1965/. A *Xanthomonas beticola* a cukorrépán vált ki tumorképződést /SALLE 1973/. A *Rhizobium* fajok a Leguminosae családba tartozó növényfajokon, a *Frankia* fajok pedig további hét növénycsalád tagjain indukálnak gyökérgümő képzést,

melykben a baktériumok megkötik a légköri nitrogént /JORDAN and ALLEN 1974, BECKING 1974, MEIJER and BROUGHTON 1982/.

Ismert néhány növénypatogén gomba is, melyek szintén szabályozatlan sejtproliferációt váltanak ki a gazdanövényen. A *Synchytrium endobioticum* a Solenaceae fajokon, az *Ustilago maydis* a kukoricán, a Taphrinaceae család tagjai pedig számos fás és lágyszárú növényen okoznak szövetburjánzást /CSORBA és BEREND 1965, WOOD 1967/.

1.6. Egyéb tumorindukáló tényezők

A rovarok közül mintegy 15 ezer faj okoz növényi sejtburjánzást /ROHFRITSCH and SHORTHOUSE 1982/.

Nicotiana interspecifikus hibrideknél gyakran tapasztaltak spontán tumorképződést, mely genetikailag determinált. Előfordul, hogy normál növényi szövet, mely *in vitro* növekedéséhez exogén auxint és citokinint igényel, hormon autonómmá válik, hasonlóan a transzformált növényi tumorszövethez /habituáció, BRAUN 1978/.

1.7. A védekezés lehetőségei

Jelenleg nem rendelkezünk olyan hatékony módszerrel, mellyel a golyvás betegség megelőzhető. A kémiai védekezés terén a fertőzés szisztémikus jellege, valamint az antibakteriális hatóanyagok elsődleges orvosi alkalmazása

korlátozzák a laboratóriumi eredmények gyakorlati alkalmazását /SASS 1972, DE CLEENE 1979, LEHOCZKY 1979, 1980/.

Biológiai védekezésben a legjelentősebb eredményeket az Ausztráliában izolált 2. biotipusú, apatogén *A. radiobacter* 84 törzssel érték el /MOORE and WARREN 1979, KERR 1980/. A módszer szőlő esetében nem használható, mivel a szőlőn domináns 3. biotipusú törzsek rezisztensek az agrocin 84-el szemben /KERR and PANAGOPOULOS 1977, PANAGOPOULOS et al. 1978/. A biológiai védekezés lehetőségeit tovább csökkenti a rezisztens mutánsok megjelenésének nagy gyakorisága, melyeknek 70 %-a patogén /SÜLE 1978b, SÜLE and KADO 1980/, valamint az agrocintermelő és patogén transzkonjugánsok létrejötte a tumorszövetben /PANAGOPOULOS et al. 1979/.

Szőlő esetében a védekezés szempontjából további lehetőséget jelent az egyes fajták érzékenységének vizsgálata. Bulgáriában és Romániában a Muscat Ottonel, Rajnai rizling, Rkacitelli és Szürkebarát fajtákat találták legellenállóbbnak szabadföldi megfigyelések alapján /MALENIN 1973, ZINCA 1979/. Mesterséges fertőzéssel szemben a *Vitis amurensis*, a *Vitis labrusca*-t, valamint egy *V. labrusca* x *V. vinifera* hibridet irtak le ellenállóknak egy-egy *A. tumefaciens* törzssel szemben /cited in: DE CLEENE and DE LEY 1976/.

Peruban végzett kísérletek alapján a *V. solonis* x Otello 1613, az SO-4 és az 5-BB hibrideknél tapasztaltak rezisz-

tenciát patogén izolátumokkal szemben /URBIZAGASTEGUI and FERNANDEZ-NORTHCOTE 1975/.

1.8. Célkitűzés

Munkánk egyik célja a hazai szőlőültetvényeket károsító *Agrobacterium* törzsek biokémiai sajátosságainak és gazdanövénykörének vizsgálata volt. Az izolátumokat elsősorban a betegség által legsúlyosabban érintett alföldi ültetvényekről gyűjtöttük be.

Másik célkitűzésünk olyan fajták és hibridek szelektálása, melyek rezisztensek a mesterséges fertőzéssel szemben. Különböző eredetű, nagyszámú fajtát teszteltünk, hogy a nemesítés számára széleskörű rezisztencia-bázist tudjunk biztosítani. Az első szelektációs lépésben ellenállónak talált fajtákat további *A. tumefaciens* törzsekkel fertőztük annak eldöntésére, hogy *A. tumefaciens*-el szembeni rezisztenciájuk általános, vagy csak törzsspecifikus. A gazda-patogén kölcsönhatások tanulmányozásához a törzseket a korábbi és az általunk végzett taxonómiai eredmények /biokémiai sajátosságok, gazdanövénykör/ alapján választottuk ki.

Ezt követően kísérleteket állítottunk be a rezisztencia öröklésmenetének, ill. a rezisztencianemesítés lehetőségeinek vizsgálatára.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

Baktériumtörzsek izolálása

Az izoláláshoz 1-1,5 cm átmérőjű élő tumorszövetet használtunk fel, melyet 1 %-os NaOCl oldattal fertőtlenítettünk 10 percig. A kéregrészt eltávolítása után ismételten fertőtlenítettük a tumordarabkát, majd kétszer lemostuk steril desztillált vízzel. A felületi fertőtlenítés után a tumorszövetet 1-2 mm-es darabkákra vágtuk és steril desztillált vízben szuszpendáltuk. A fenti szuszpenzióból 1 kacsnyi inokulumot szélesztettünk Bouillon-agaron /1% glükóz, 0,5% Bouillon-portáptalaj, 0,1% élesztőkivonat, 2% agar/. A kísérleti anyagot 4 napig inkubáltuk 25 °C-on, majd az Agrobacterium-szerű telepeket ismételten tisztítottuk. A kapott tisztatenyészeteket a fenti táptalajon - 0,5% CaCO₃-al kiegészítve - tartottuk fenn 4 °C-on. Az izolátumok patogénitását *Vitis vinifera* cv. Narancsízű dugványokon ellenőriztük.

Felhasznált baktériumtörzsek

Kísérleteinkben 45 izolátumot vizsgáltunk, melyekből az AT-jelzésűeket LEHOCZKY J. bocsájtotta rendelkezésünkre /1.táblázat/. Kontroll kísérletek céljára 11 törzset használtunk fel /2. táblázat/. A biokémiai teszteket 1-1 /bio-típusonként/ kontroll törzsszel végeztük, míg a gazdanövénykörvizsgálatokba valamennyi törzset bevontuk.

Morfológiai vizsgálatok

A Gram-festéshez a törzsek 12 órás tenyészeit használtuk fel, a festést Hucker-szerint végeztük. A spóraképzést a Dorner-féle módszerrel vizsgáltuk a baktérium-törzsek 1 hónapos tenyészetén.

Szénforrásvizsgálatok

A kísérletekhez a következő alaptáptalajt használtuk: K_2HPO_4 3 g/l, NaH_2PO_4 1 g/l, $(NH_4)_2SO_4$ 1 g/l, $MgSO_4 \times 7 H_2O$ 0,3 g/l, KCl 0,15 g/l, $FeSO_4 \times 7 H_2O$ 5 mg/l, Wickerham-vitamin törzsoldat 1 ml/l, agar /Difco-Bacto/ 15 g/l. Az egyes szénforrásokat 0,5%-ban alkalmaztuk. A táptalajt 115 °C-on autoklávoztuk 15 percig. A kísérleteket a 3. és a 7. napon értékeltük.

Hidrolitikus tesztek

A zselatin hidrolízis vizsgálatához a törzseket a következő táptalajra oltottuk le: Bouillon portáptalaj 5 g/l, élesztőkivonat 1 g/l, zselatin 200 g/l. A keményítő-hidrolízishez a fenti táptalajt használtuk, 1% keményítővel és 1,5% agarral megszilárdítva. A hidrolízist káliumjodidos-jódoldattal ellenőriztük. A többi esetben a szénforrás nélküli alaptáptalajt használtuk. A kísérleteket a 7. és a 14. napon értékeltük.

1. táblázat

A kísérletekben felhasznált Agrobacterium izolátumok

Agrobacterium törzs	Eredet /szőlőfajta/	Származás
AT-1, AT-2, AT-3	Olimpia	Kecskemét-
AT-64, AT-66	"	Katonatelep
EK-1, EK-2	Afuz Ali	"
NI-1, NI-2	Narancsizű	"
Tm-4	Téli muskotály	"
SF-1, SP-1	Szultanina	"
AT-6	Ezerfürtű	Kecskemét-
AT-62, AT-63	K-3	Miklóstelep
Ca-M	Cardinal	"
B-10 /7, B-8/ 4	5 BB	"
C-14/36	5 C	"
AT-4	Rekord	Lakitelek
B-1	Baján sirej	"
Hm-1	Hamburgi muskotály	"
K-1	Kuldzsinszkij	"
SK-1	Szőlőskertek királynője	"
AT-61	Ezerjő	Köncsög
AT-91	Piros Tramini	Kerekegyháza
S-1, S-2, S-3	Izsáki Sárfehér	Orgovány
S-4, S-5	"	"
Sz-1, Sz-2	Szürkebarát	Helvécia
IO-1.1., IO-2.1.	Irsai Olivér	Izsák
IS-1.1., IS-2.1.	Izsáki Sárfehér	"
ZW-1, ZW-2, ZW-3	Zweigelt	Balatonboglár
Rr-2, Rr-4	Rajnai rizling	"
AB-3, AB-4	Alicante Bouschet	"
AB-5	"	"



2. táblázat

Kontroll Agrobacterium törzsek

Törzs	Biotípus	Eredet
Ach-5, C-58, T-37		MÁRTON L.
B-6, 0, 4	1.	SÜLE S.
OD-50		NYIKOLAJEVNA, L. B.
1, 7, 63	2.	SÜLE S.
19/8	3.	SÜLE S.

Etanol-túrés /5%/

Az élesztőkivonatos agart /1% glükóz, 0,5% élesztőkivonat, 1,5% agar/ az autoklávozás után 50 °C-ra hűtöttük, ezt követően adtuk hozzá az etanolt. Az értékelést a leoltást követő 3. és 7. napon végeztük.

3-ketolaktóz teszt

A táptalajt BERNAERTS and DE LEY /1963/ a Benedict-reagenst KERR and PANAGOPOULOS /1977/ szerint használtuk. A kísérletet a 4. napon értékeltük.

Agrocin-érzékenység meghatározása

Az Agrobacterium radiobacter K-84 törzs 48 órás tenyésze mellett csikhúzással oltottuk le a tesztörzsek higyszuszpenzióját. A táptalajt SÜLE /1978b/ szerint használtuk, az inkubációs idő 48 óra volt.

A leoltásokhoz a baktériumtörzsek 48 órás tenyészetéből készített szuszpenziót használtuk /1 kacsnyi inokulum/ 2 ml 0,8%-os NaCl oldat/. A táptalajok pH-ját 7,0-7,2-re állítottuk be, 5%-os NaOH-al. Valamennyi kísérletet 25 °C-on inkubáltunk. A biokémiai tesztek ismétlésének száma 4-6 volt.

Patogenitástesztek

A fertőzéshez felhasznált növényeket a baktériumtörzsek 48 órás tenyészetével, sérülésen keresztül fertőztük a száron. A növényeket kerti talajban /lágyszárúak/ vagy perlitben /szőlő/ neveltük. A kísérleteket üvegházban végeztük, 23-28 °C-on. A lágyszárú növényeket 1 hónap, a szőlőt 6 héttel a fertőzés után értékeltük. A tesztelt növényfajokat a 4. táblázatban soroljuk fel.

Rezisztencia-szelekciós kísérletek

Kísérleteinkben mintegy 100 V. vinifera intra-, és interspecifikus hibridet, fajtát teszteltünk /3. táblázat/. A C-, és D-jelű hibrideket és a Magnésküli fajtát KRISZTEN GY., a V. amurensis klónokat és az amuri hibrideket pedig KOLEDA I. bocsájtotta rendelkezésünkre. A többi fajtát és hibridet a KE-SZBKI Kutató Állomásain gyűjtöttük be. A begyűjtött szaporítóanyagot 0,5%-os Szolvochin-Extrá-val fertőtlenítettük. A tesztelt fajták kétrügyes dugványait perlitben hajtottuk. A növényeket tápanyagutánpótlás céljából

2 hetenként 0,5%-os Volldüngerrel öntöztük. A fertőzéshez az 1. biotipusú AT-4 és a 3. biotipusú AT-1 törzsek 48 órás tenyészetét használtuk, melyekkel a zöld hajtásokat fertőztük. Az első szelekciós kísérletben rezisztensnek bizonyult hibrideket, valamint néhány érzékeny fajtát további *A. tumefaciens* törzsekkel teszteltünk annak eldöntésére, hogy az *A. tumefaciens*-el szembeni fogékonyság általános vagy törzsspecifikus jellegű /5. táblázat/. A törzseket a biokémiai sajátágaikban és gazdanövénykörükben lévő eltérések alapján választottuk ki.

A patogenitásteszteket 4-6, a rezisztencia-szelekciós kísérleteket pedig 6-10 ismétlésben állítottuk be.

Rezisztencia-genetikai vizsgálatok

A genetikai elemzéshez kerti talajban nevelt magoncokat fertőztünk a 3. biotipusú *A. tumefaciens* AT-1 törzsszel, mely számos szőlőfajtán erősen patogénnek bizonyult /SZEGEDI 1981/. A fiatal, 10-15 cm-es magoncokat a száron kettő helyen fertőztük, sérülésen keresztül. A fertőzött növényi anyagot üvegházban tartottuk, 23-28 °C-on. A magoncszelekciós kísérleteket hat hét után értékeltük.

Vizsgálatainkhoz a következő hibridcsoportokat használtuk fel: rezisztens és érzékeny genotipusú szülők mindkét irányú keresztezéséből származó hibridek /1/, rezisztens /2/, valamint az érzékeny /3/ szülők sajátbeporzásból származó magoncai. A hibridcsaládok eredetét a 6.-8. táblázatnál ismertetjük.

3. táblázat

A tesztelt szőlőfajták

A. Vitis fajok és klónjaik /10/

1. V. amurensis 122	6. V. Piaetzki ^x
2. V. amurensis 124	7. V. solonis
3. V. amurensis P-1	8. V. rupestris du Lot
4. V. amurensis Pu	9. V. riparia portalis ♀
5. V. flexuosa ^x	10. V. riparia Martin de Perier

B. Régi direkttermő fajták /5/

11. Bacchus	14. Otello
12. Fehér Delaware	15. Noah
13. Izabella	

C. Franco-amerikai hibridek és származékaik /27/

16. Seyve-Villard 5247	30. Seibel 1
17. Seyve-Villard 12286	31. Seibel 2
18. Seyve-Villard 12303	32. Seibel 4643
19. Seyve-Villard 12358	33. Seibel 4646
20. Seyve-Villard 12364	34. Seibel 5279
21. Seyve-Villard 12375	35. Seibel 5450
22. Seyve-Villard 12390	36. Seibel 5455
23. Seyve-Villard 12395	37. Seibel 7053
24. Seyve-Villard 18283	38. Seibel 8355
25. Seyve-Villard 18402	39. Seibel 5409
26. Zalagyöngye	40. RF-5 ^x
27. Bianca	41. RF-16 ^x
28. R-10 ^x	42. RF-48 ^x
29. R-49 ^x	

D. V. amurensis és V. vinifera hibridek /31/

43. 28/19	59. A6/4
44. A2/11 /Alföld-100/	60. D-7
45. A3/21	61. D-8

3. táblázat folytatása

46. A3/39	62. D-9
47. A3/42	63. Negrityenok
48. A4/18	64. Szaperavi szevernij
49. A4/24	65. Sztyepnyak
50. A4/42	66. C-26
51. A5/7	67. C-28
52. A5/18 /Kunleány/	68. C-43
53. A5/28	69. C-44
54. A5/33	70. C-50
55. A5/40	71. 11 ^x
56. A5/49	72. 12 ^x
57. A6/1 /Kunbarát/	73. 16 ^x
58. A6/3	

E. Európai fajták /38/

74. Afuz Ali	93. KM-159
75. Aligóte	94. Kocsis Irma
76. Askeri	95. Kövidinka
77. Attila	96. Magnélküli
78. Cabernet franc	97. Narancsizű
79. Cardinal	98. Olaszrizling
80. Cegléd szépe K-73	99. Pannónia kincse
81. Chardonnay	100. Rajnai rizling
82. Chasselas	101. Rannij magaracsa
83. Ezerfürtű	102. Rekord
84. Ezerjó	103. Rkacitelli
85. Favorit	104. Rubinovij magaracsa
86. Génuai zamatos	105. Sarba
87. Hamburgi muskotály	106. Sauvignon
88. Hárslevelű	107. Szaperavi
89. Itália	108. Szürkebarát
90. Jubileum-75	109. Thallóczy L. muskotály
91. Kecskemét-9	110. Zenit
92. Kékfrankos	111. Zöld veltelini

x: A fenti hibrideket KOLEDA I. /5., 6./, SZEGEDI S. /28., 29./, FÜRI J. /40.-42/ és GÖNCZI L. /71.-73./ bocsáj-totta rendelkezésünkre.

3. EREDMÉNYEK

3.1. A szőlőről izolált *A. tumefaciens* törzsek biokémiai sajátságai, gazdanövényköre

Kísérleteinkben 9 termőhelyről 23 szőlőfajtáról származó 45 *Agrobacterium* izolátumot vizsgáltunk, 11 patogén kontroll törzssel összehasonlítva /1. és 2. táblázat/.

Valamennyi izolátum Gram-negatív, spórát nem képeznek. Növekedésükhöz vitamint nem igényelnek. A fruktózt, galaktózt /az EK-1 és EK-2 kivételével/, glükózt, laktózt, maltózt, raffinózt, rhamnózt, szacharózt, trehalózt, adonitot, glicerint, mannitot, szorbitot, citrátot, laktátot, alanint, glutamint, glutaminsavat, hisztidint, /az AT-1 és Sz-2 kivételével/ és prolint hasznosítják egyedüli szén és energiaforrásként. Nem hasznosítják a ciszteint, fenil-alanint, glicint, izo-leucint, metionint, szerint, tirozint, treonint, triptofánt, valint. Az agart, cellulózt, eszkulint, inulint, keményítőt, valamint a zselatint nem hidrolizálják.

A biotipustesztek során a következő eredményeket kaptuk. Valamennyi izolátum pozitív L/+ tartaráton és malonáton /utóbbin AT-3 és AT-4 negatív/, de nem hasznosítják a mezo-erythritet. Az AT-3 és AT-4 törzsek meleztóz, etanol, dulcitol és 3-ketolaktóz pozitívak, míg a többi 43 izolátum a fenti tesztekben negatív volt. 5% etanolon csak az AT-3 és AT-4 törzsek voltak képesek növekedni, a többi törzs növekedését gátolta.

Az agrocin 84-el szemben, melyet a 2. biotipusú *A. radiobacter* 84 termel, csak a 3-ketolaktóz pozitív /2.kép/ AT-4 törzs érzékeny, a többi 44 izolátum in vitro agrocin rezisztens.

A 3. biotipusú törzsek intenzívebben hasznosítják az L/+/-tartarátot, mint a glükózt. Amikor a 0,003 % brómtimolkékkel kiegészített alaptáptalajba szénforrásként glükózt és L/+/- tartarátot együtt adtunk, a 2. biotipusú törzsek körül a táptalaj sárga, a 3. biotipusú törzsek körül kék volt /3. kép/. Az előbbi jelenség a pH savas /glükóz-hasznosítás/, utóbbi lúgos /tartarát-hasznosítás/ irányú változására utal.

Valamennyi izolátum és kontrollként használt törzs patogén szőlőn, napraforgón, dohányon és paradicsomon. Daturán, borsón, káposztán /a B-6 és a 4 kivételével/ és Kalanchoen az 1. és 2. biotipusú kontroll törzsek patogének. Az izolált törzsek közül az AT-3 /a káposzta kivételével/ és AT-4 valamennyi tesztnövényen okozott tumorképződést. Az Sz-1 és Sz-2 borsón és Daturán, az S-1, S-2, S-3, S-4, S-5, SF-1 és B-1 pedig csak Daturán patogén. A 19/8 /3. biotipusú kontroll törzs/ és a többi izolátum nem indukált tumorképződést az utóbbi négy tesztnövényen /4. táblázat/. Az AT-3, AT-4, valamint a C-58, T-37 és O törzsek Kalanchoen teratómát képeznek.

4. táblázat

A patogenitástesztek eredményei /biotípusok szerint/

Biotípus Tesztnövény	1.	2.	3.
V. vinifera cv. Chardonnay	+ /9/9/	+ /3/3/	+ /44/44/
Helianthus annuus	+ /9/9/	+ /3/3/	+ /44/44/
Lycopersicum esculentum	+ /9/9/	+ /3/3/	+ /44/44/
N. tabacum cv. Xanthi	+ /9/9/	+ /3/3/	+ /44/44/
Datura stramonium	+ /9/9/	+ /3/3/	- /9/44/
Pisum sativum	+ /9/9/	+ /3/3/	- /2/44/
Kalanchoe daigremontiana	+ /9/9/	+ /3/3/	- /0/44/
Brassica oleraceae	+ /6/9/	+ /3/3/	- /0/44/

/ /-ben: pozitív reakciók/tesztelt törzsek száma

3.2. Rezisztenciaszelekciós kísérletek

A golyvás tünetek a harmadik hét elteltével váltak láthatóvá a fertőzés helyén..Hat hét után az érzékeny fajtákon nagyméretű /0,8-1 cm átmérőjű/ tumorok fejlődtek ki /4. kép/.

A Vitis fajok közül a V. amurensis 124, P-1 és Pu klonja, a V. flexuosa, a V. Piaetzki és a V. riparia cv. portalis himnős változatán sem az AT-1, sem az AT-4 törzs nem indukált tumort. A többi vizsgált Vitis faj mindkettő törzssel szemben fogékony.

A direkttermő fajták közül a Noah és az Otello, a francia-amerikai hibridek közül pedig a Seibel 2 és a Csabagyöngye x Seibel 5279 keresztezésből származó RF-48 volt ellenálló.

Jóval nagyobb számú rezisztens anyagot kaptunk az amuri hibridek vizsgálata során. A *V. amurensis* és *V. vinifera* keresztezésből /ill. ezek európai fajtákkal való visszakeresztezéseiből/ származó 31 hibridből 16 bizonyult ellenállónak mindkettő törzssel szemben /1. ábra/. Az ellenálló hibrideken csak sérülési kallusz képződött az infekció helyén /5. kép/, de néhány rezisztens hibriden az AT-4 törzs az infekciós helyek 10-15 %-án gyenge tumorképződést indukált, mely csak három hónap után volt megfigyelhető /6. kép/.

Valamennyi európai fajta érzékeny volt az AT-1 és AT-4 törzsekkel szemben, de a Rkacitelli és Askeri fajtákon a tumorképződés kisebb mértékű volt, mint a többi *V. vinifera* fajtán.

3.3. Az ellenállóképesség törzsspecifikus tulajdonság

Annak eldöntésére, hogy az *A. tumefaciens*-el szembeni ellenállóképesség törzsspecifikus, vagy általános, a vizsgált hibridek közül hat érzékenyt és hat rezisztent további tíz *A. tumefaciens* törzssel fertőztük. Az 1. biotípusú törzsek közül az Ach-5 és B-6 oktopin-, a C-58 pedig nopalin-típusú plazmiddal rendelkezik /SCOTT et al. 1979, VAN MONTAGU and SCHELL 1982/. Az AT-4 törzs agrocin-

1. ábra

A rezisztencia megnyilvánulása az A2/11 /1/ és a 28/19 /2/ hibridekben

1. A2/11 /r/ x Seyve-Villard 12375 /s/

C-26 } /r/	C-28 } /s/
C-43 }	C-44 }
	C-50 }

A2/11 /r/ x /Génuai zamatos x Csabagyöngye/^{n.t.}

D-7 } /r/
D-8 }
D-9 }

A2/11 /r/ x Kövidinka /s/

16 /r/	11 } /s/
	12 }

2. 28/19 /r/ x Thallóczy L. muskotály /s/

A3/21 /r/	A4/13 /s/
-----------	-----------

28/19 /r/ x Afuz Ali /s/

A4/42 /r/	A3/42 } /s/
	A5/18 }

28/19 /r/ x Itália /s/

A4/24 A5/43 } /r/	A3/39 A5/40 } /s/
A5/18 A6/1 }	A4/18 A6/3 }
A5/33 A6/4 }	A5/7 }

r= rezisztens, s= érzékeny, n.t.= nem tesztelt

Az A2/11 Thallóczy L. muskotály x /V. amurensis x V. vinifera F2/, a 28/19 pedig V. amurensis x V. vinifera F2 hibrid /KOLEDA, személyes közlés/.

érzékenysége és teratómaképzése szintén a nopalin jellegre utal. A 3. biotípusú törzseket a gazdanövénykörükben lévő eltérések /patogenitás Daturán és Pisumon/ alapján választottuk ki.

Kísérleteinkben az A5/43 hibrid és a Kunbarát fajta /korábban A6/1/ valamennyi törzzsel szemben ellenálló volt. Hasonló jelleget mutatott az A4/24 és A4/42 hibrid is, melyeken az Ach-5, B-6, C-58, AT-4 és AT-1 törzsek egyike sem volt patogén. Az AT-1 és AT-4 törzsekkel szemben rezisztens A2/11, C-43, RF-48 hibridek és a Moldava fajta viszont érzékenyek az Ach-5-el és B-6-al szemben. Ennek ellenkezőjét tapasztaltuk az első szelekciós lépésben érzékenynek bizonyult fajták egy részénél, míg a *V. vinifera* cv. Chardonnay és a *V. solonis* minden esetben fogékony volt /5. táblázat/. Az R-10 és a Zalagyöngye fajtákon mind az Ach-5 és B-6, mind a C-58, AT-4, AT-1 és AT-66 patogén.

3.4. A rezisztencia öröklésmenete

A kísérletekhez rezisztenciaforrásként a *V. amurensis* eredetű interspecifikus hibrideket használtuk fel, melyek az *Agrobacterium*-rezisztencián kívül peronoszpóra és fagyellenállóképességük miatt is értékesek a nemesítés számára /KOLEDA 1975/.

A tumorok megjelenése az érzékeny magoncokon hasonló volt, mint a dugványokon /7. kép/. Az ellenálló növényeken

5. táblázat

Néhány hibrid /fajta/ különböző A. tumefaciens törzsekkel szembeni fogékonysága

<div style="display: inline-block; transform: rotate(-45deg);">A. tum.</div> hibrid	Ach-5	B-6	C-58	AT-4	4	1	63	AT-1	AT-66	S-1	S-2	Sz-1
Kunbarát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A5/43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A2/11	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-43	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RF-48	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Moldava	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Narancsizü	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kunleány	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Pannónia kincse	-	-	+	+	+	+	+	+	+	n.t.	n.t.	n.t.
Afuz Ali	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Chardonnay	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Vitis solonis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	n.t.	+

+ = érzékeny - = ellenálló n.t. = nem tesztelt

6. táblázat

A rezisztens és érzékeny fenotípusú szülők reciprok keresztezéséből származó magoncok tesztelésének eredményei

Keresztezés	Rez.	Szenz.	Egyed- szám
A/ rezisztens x szenzitiv			
1. V. amurensis 34 x Favorit ^{o,+}	28	0	28
2. V. amurensis 115 x Favorit ^o	15	13	28
3. C-43 x Favorit	21	23	44
4. C-43 x Csabagyöngye ^o	51	34	85
5. C-43 x Seyve Villard 12375 ^o	14	9	23
6. A2/11 x Sultanina ^o	70	54	124
B/ szenzitiv x rezisztens			
7. B-45 x C-43 ^o	31	42	73
8. R-10 x C-43 ^o	23	49	72
9. Favorit x C-43	22	19	41
10. R-10 x A2/11 ^o	33	64	97
11. Zalagyöngye x Kunbarát	60	64	124
12. Kunleány x Kunbarát	15	14	29
Összes egyed /%/	355/48/	385/52/	740/100/

o = a fenti hibridcsaládokat KOLEDA I. /1. és 2./, illetve KOZMA P. /4.-6., 7., 8. és 10./ bocsájtotta rendelkezésünkre

+ = az eredményeket az összesítésben nem vettük figyelembe



az infekció helyén sérülési kallusz képződött, vagy a környező sejtek elhaltak /8. kép/.

A rezisztens és érzékeny fenotípusú szülők reciprok keresztezéseiből kapott magoncok 48 %-a volt ellenálló és 52 %-a érzékeny az *A. tumefaciens* AT-1 törzssel szemben /6. táblázat/. A rezisztencia a petesejttel és a pollenrel egyaránt öröklődik.

A rezisztens fenotípusú szülők valamint további három A2/11 eredetű ellenálló hibrid /D-7, D-8 és D-9/ sajátbeporzásból származó magoncainak 74,3 %-a ellenálló, 25,7 %-a érzékeny volt /7. táblázat/. Az érzékeny szülők sajátbeporzásból származó magoncainak mindegyike fogékonynak bizonyult /8. táblázat/. A vizsgált anyagban a tumorok mérete között szignifikáns különbséget nem tapasztaltunk.

7. táblázat

A rezisztens-sajátbeporzású magoncok tesztelésének eredményei

Hibridcsalád	ellenálló	érzékeny	egyedszám
13. Kunbarát	68	22	90
14. A2/11	97	24	121
15. D-7 ^o	47	22	69
16. D-8 ^o	39	20	59
17. D-9 ^o	46	16	62
18. C-43	74	24	98
Összes egyed /%/	371 /74,3/	128 /25,7/	499 /100/

o= a fenti hibridcsaládokat KRISZTEN GY. bocsájtotta rendelkezésünkre.

8. táblázat:

Az érzékeny-sajátbeporzású magoncok tesztelésének eredményei

Hibridcsalád	ellenálló	érzékeny	egyedszám
19. Favorit	0	33	33
20. B-45 ^o	0	50	50
21. R-10	0	112	112
22. Zalagyöngye	0	87	87
23. Thallóczy L. muskotály	0	49	49
24. Afuz Ali	0	68	68
25. Itália	0	27	27
26. /Génuai z. x Csabagyöngye/ ^o	0	13	13
27. Seyve-Villard 12375 ^o	0	96	96
Összes egyed /%/	0 /0/	535 /100/	535 /100/

o= a hibridcsaládokat KRISZTEN GY. /20., 26./ és BEREZNAI L. /27./ bocsájtotta rendelkezésünkre.

4. MEGVITATÁS

4.1. Az Agrobacterium izolátumok taxonómiai jellemzése

A biotipustesztek eredményei alapján az AT-3 és AT-4 törzs az 1., a többi 43 törzs pedig a 3. biotípusba tartozik. A két 1. biotípusú törzs L/+ tartarát hasznosítása eltér a korábbi irodalmi adatoktól /SÜLE 1978a/. A 3. biotípusú törzsek az eddigi közleményeknek megfelelően L/+/-tartarát és malonát pozitívak, de nem hasznosítják a melecitózt,

mezo-erytritet, dulcított és etanolt, nem termelnek 3-ketolaktózt /2. kép/. A 3. biotípus specializációja V. viniferá-n világviszonylatban általános, mivel Görögországból, Szovjetúnióból, Jugoszláviából, Dél-Afrikából, Egyesült Államokból és Magyarországról származó szőlőizolátumokkal is hasonló eredményeket kaptak /LOUBSER 1978, PANAGOPOULOS et al. 1978, SÜLE 1978a, PERRY and KADO 1982, BURR and KATZ 1983/. Hasonló egyezést mutat az agrocin 84-el szembeni rezisztencia, így az *A. radiobacter* 84 a szőlőnél nem használható biológiai védekezésre.

A 3. biotípusú törzsek szűkebb gazdanövényköre szintén megfelel az eddigi közleményeknek, de a hazai izolátumok - ellentétben a biokémiai sajátságokkal - földrajzi eltérést mutatnak a görög törzsektől. A Görögországban izolált 3. biotípusú *A. tumefaciens* törzsek nem okoztak tumorképződést paradicsomon és dohányon, de patogének voltak *Kalanchoen* /PANAGOPOULOS et al. 1978, THOMASHOW et al. 1980, MILLER and VRUGGINK 1981/. A 43 3. biotípusú izolátumot gazdanövénykörük alapján a következő csoportokra lehet osztani:

- 1./ patogén borsón és *Daturán* /Sz-1 és Sz-2/
- 2./ patogén *Daturán*, de nem okoz tumorképződést borsón /S-1, S-2, S-3, S-4, S-5, SF-1 és B-1/
- 3./ mindkét növényfajon apatogén /a további 34 törzs/.
Olaszországban *Chrysanthemum*-on, Braziliában *Rubus*-on szintén a 3. biotípusú törzsek felelősek a golyvás betegsé-

gért /BAZZI and ROSCIGLIONE 1982, PEREIRA et al. 1975, cited in: KERR and PANAGOPOULOS 1977/.

Jelenleg nem ismert, hogy miért a 3. biotípus specializálódott szőlőre. Közismert, hogy a *V. vinifera* nagy mennyiségű L/+ tartarátot tartalmaz, melynek szerepe lehet ennek a gazdanövény-patogén rendszernek a kialakulásában, mivel a 3. biotípusú törzsek egyedüli szénforrásként hasznosítják a borkősavat /SÜLE, személyes közlés/. Ez a feltételezés önmagában nem ad kielégítő magyarázatot, mivel a 2. biotípus is tartarát pozitív. Eredményeink viszont arra engednek következtetni, hogy a 3. biotípus a glükózzal szemben előnyben részesíti az L/+ tartarátot, mivel a két szénforrás együttes alkalmazása esetén a táptalaj pH-ja lúgos irányba tolódott el. A 2. biotípusú törzsek viszont a glükózt hasznosítják, amit a brómtimolkék indikátor színváltozása egyértelműen jelez. A fentiek alapján a 3. biotípusú törzsek nyilvánvalóan sokkal gyorsabban szaporodnak a szőlő edénynyalábrendszerében, mint a 2. biotípusú, vagy a tartarát negatív 1. biotípusú törzsek. Ezzel magyarázható, hogy a *V. vinifera*-n ez a biotípus specializálódott. A 3-ketolaktóz termelő és tartarát-hasznosító törzsek közül /AT-3, AT-4, 4/ az AT-3 a borkősavat, az AT-4 és 4 pedig a glükózt hasznosítja, együttes alkalmazás esetén. A módszer jól használható a 3. biotípusú törzsek gyors, egyszerű meghatározására is, mely elsősorban módszertani szempontból jelentős.

4.2. A rezisztencianemesítés lehetőségei a szőlő golyvás betegségének megelőzésére

Munkánk első lépésének célja rezisztenciaforrások szelektálása volt. Kísérleteinkben a következő három fajta /hibrid/ csoportot használtuk fel: 1-amerikai Vitis fajokkal előállított V. vinifera interspecifikus fajták /francia-amerikai hibridek/, 2-kelet-ázsiai Vitis fajok és V. amurensis eredetű fajhibridek, 3-európai /V.vinifera/ fajták. Az amerikai Vitis fajokat francia nemesítők /Seibel, Seyve-Villard/ vonták be a keresztezéses nemesítésbe, filoxéra és peronoszpóra ellenállóképességük miatt. A V. amurensis-t hazánkban mintegy 30 éve használják fel új, ellenálló fajták előállítására /KOLEDA 1975/. A rezisztenciaszelekciós kísérletekben azokat a hibrideket vizsgáltuk, melyek a további nemesítő munka számára értékesek.

Eredményeink alapján a kelet-ázsiai Vitis fajok /V. amurensis, V. flexuosa, V. Piaetzki/ a legjelentősebbek az A. tumefaciens-el szembeni rezisztencianemesítés számára. A legnagyobb számú ellenálló hibrid a V. amurensis felhasználásával előállított anyagból került ki, melyeket a 28/19 és az A2/11 V. viniferával való visszakeresztezésével állítottak elő /KOLEDA I. és KRISZTEN GY., ld.1. ábra/. A fenti hibridek rezisztenciájáért nyilvánvalóan a V. amurensis a felelős, mivel a négy tesztelt klón közül három ellenállónak bizonyult, míg az európai fajták mindegyike érzékeny. Az ellenállóképesség megnyilvánult az F1 /ld. 6. táblázat/

és az F2 /28/19/ nemzedékekben, ennek BC1 /A2/11, valamint a 28/19 utódnemzedékei/ és BC2 /A2/11 és Kunbarát utódnemzedékei/ hibridjeiben, továbbá a C-43 utódaiban /1. ábra, 6. és 7. táblázat/.

A direkttermő fajtákat a *V. labrusca* és a *V. vinifera* keresztezésével állították elő /CSEPREGI és ZILAI 1960/ és a rezisztenciaforrás valószínűleg a *V. labrusca* volt /DE CLEENE and DE LEY 1976/. A kettő francia-amerikai eredetű hibrid rezisztenciaforrása nem ismert.

A 3. biotípusú *A. tumefaciens* AT-1 törzsszel szembeni rezisztencia mendeli-úton, dominánsan öröklődik és a rezisztencia-gén egy kromoszómán lokalizált, mivel a reciprok keresztezésekben a hasadási arány közel 1:1 volt. A *V. amurensis* 34 utódainak mindegyike ellenálló volt /6. táblázat/, ami arra utal, hogy a fenti *V. amurensis* klón homozygóta-rezisztens genotípusú, mivel a Favorit sajátbeporzású magoncok mindegyike érzékeny /8. táblázat/. A többi ellenálló fenotípusú szülő /*V. amurensis* 115, Kunbarát, C-43 és A2/11/ a rezisztenciára heterozygóta.

A rezisztencia öröklésmenetére vonatkozó feltevésünket az ellenálló és fogékony fenotípusú szülők sajátbeporzású magoncainak tesztelésével erősítettük meg. A rezisztens-sajátbeporzásból kapott növények esetében a hasadási arány 3 /rezisztens/ : 1 /érzékeny/ volt, míg az érzékeny szülők sajátbeporzású utódai között nem kaptunk ellenállót. Az 1. ábrán bemutatott ellenálló hibridek esetében a re-

zisztenciaforrás nyilvánvalóan az A2/11 és a 28/19, mivel mint a Seyve-Villard 12375 és /Génuai zamatos x Csabagyöngye/, mint az Afuz Ali, Itália és Thallóczy Lajos muskotály fajták sajátbeporzású magoncai érzékenyek voltak. Ennek alapján a recesszív génnek szerepe kizárható a rezisztencia meghatározásában. Az ellenállóképesség domináns öröklődése lehetővé teszi, hogy többszöri visszakeresztezéssel kiszűrjük a *V. amurensis* "vad"-tulajdonságait és *V. vinifera* értékű, de rezisztens hibrideket kapjunk.

A rezisztencia egy domináns génhez kötött öröklésmenete csak a vizsgált gazdanövény - patogén rendszerre tekinthető érvényesnek. A 3. biotipusú *A. tumefaciens* AT-1 törzsszel szemben ellenálló hat hibriden nem okoztak tumorképződést sem a 2., sem a 3. biotipusú törzsek, de az 1. biotipusú Ach-5 és B-6 patogén volt az A2/11, C-43, RF-48 hibrideken és a Moldava fajtán /5. táblázat/. Ennek alapján nyilvánvaló, hogy az eltérő gazdanövénykörű Ach-5 és B-6 törzsekkel szembeni ellenállóképességet egy másik, az AT-1 rezisztens-géntől függetlenül öröklődő gén határozza meg. Görög szőlőfajták hasonló eltéréseket mutattak a különböző Ti-plazmákkal és kromoszómával rendelkező *A. tumefaciens* törzsekkel szemben /KNAUF et al. 1982/. Az 1. biotipusú Ach-5 és B-6 törzsszel szembeni ellenállóképesség gyakorlati jelentősége szőlőnél nem ismert, mivel L/+/-tartarát negatív törzsek kártétele *V. vinifera*-n nem bizonyított, vagy csak jelentéktelen.

A peronoszpórával szembeni ellenállóképesség függ a rezisztenciaforrástól. Az *Euvitis* alnemzetségben az öröklésmenet poligénes, míg a *V. rotundifolia* esetében egy domináns gén határozza meg /ESPINO and NESBITT 1982/. Az anthraknózissal /*Elsinoe ampelina*/ szembeni fogékonyságot három génpár kölcsönhatása által determinált /MORTENSEN 1981/.

Az *Agrobacterium*-al szembeni rezisztencia élettani-biokémiai háttere jelenleg nem ismert. Azok a növénycsaládok - az *Euphorbiaceae* kivételével -, melyekben jelentős a polifenolszármazékok felhalmozódása, jóval érzékenyebbek az *A. rhizogenes*-el szemben, mely taxonómiaailag és gazdanövénykörében közel áll az *A. tumefaciens*-hez. Az *Euphorbia* fajoknál valószínűleg az erősen toxikus diterpén származékok okozzák a rezisztenciát /DE CLEENE and DE LEY 1981/. A bakteriális és növényi sejtfal szerkezetében, a növény hormonális szabályozásában lévő különbségek az egyes növénycsaládok, illetve fajok között szintén meggátolhatják a tumorképződést /a baktérium sejtfalhoz való kötődést, a Ti-plazmid megnyilvánulását/ az ellenálló fajoknál /MATT-HYSSE and GURLITZ 1982, RAO et al. 1982, VAN MONTAGU and SCHELL 1982/. Antibakteriális hatású vegyületek a szőlő esetében nem játszanak szerepet az ellenállóképesség meghatározásában. Az RF-48, C-43 hibridek és a Kunbarát fajta intakt szövetéből /szár/ baktériumgátló /AT-1 törzs/ anyag nem volt kimutatható és az AT-1 törzset vissza lehe-

tett izolálni az ellenálló magoncokból /SZEGEDI és HAYDU, nem közölt eredmények/. ANDERSON és MOORE /1979/ kísérleteiben 18 patogén *Agrobacterium* izolátum 11 növényfajon tesztelve 17 különböző gazdanövénykör-mintázatot mutatott. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a tumorképzés létrejöttében nagyszámú faktor játszik szerepet, mint a gazdanövény, mint a patogén oldalról, melyek természete csak részben ismert.

Szőlő esetében az *A. tumefaciens*-el szembeni rezisztencianemesítés hatékony módszert nyújthat a golyvás betegség megelőzésére. A kémiai védekezéssel szemben jelentős előnye, hogy környezetkimélő és gazdaságos, mivel nincs szükség az egyre dráguló növényvédelmi technológiára. A biológiai védekezésre használt *A. radiobacter* 84 nem gátolja a 3. biotípusú törzsek szaporodását /PANAGOPOULOS et al. 1978/, ugyanakkor a Kunbarát fajtán és az A5/49 hibriden a három biotípus 12 törzsének egyike sem okozott tumorképződést. Kísérleti eredményeink szabadföldi ellenőrzésére csak a Kunbarát fajta esetében volt lehetőségünk, mivel a többi hibrid elsősorban a további nemesítés számára értékes. Az említett fajtán a Hosszúhegyi Á.G.-ban 2800 felvételezett egyed egyiken sem volt természetes fertőzés, szemben a Piros Tramini fajta 9%-os fertőzöttségével /RIGÓ, személyes közlés/. Néhány mesterséges fertőzéssel szemben érzékeny fajta is kielégítő toleranciával rendelkezik szabadföldi körülmények között, pl. a Rkacitelli, Muscat Ottonel, Kövidinka és Kunleány /MALENIN 1973, KOVÁCS személyes közlés, SZEGEDI nem

közölt adatok/. A módszer hátránya, hogy több évtizedes nemesítést igényel, míg egy rezisztens " vad " fajból kiindulva többszöri visszakeresztezéssel és szelekcióval *V. vinifera* értékű ellenálló hibridet kapunk. Mivel ez a munka hazánkban mintegy 30 éve elkezdődött /KOLEDA 1975/, így jelenleg már nagyszámú BC1 és BC2 hibridanyag áll rendelkezésre, melyekkel egyszeri visszakeresztezéssel új, ellenálló fajták állíthatók elő. A rezisztenciaszelekciós módszer alkalmazható a gyümölcsfaalanyok golyvás betegségével szembeni védelmére is /EL-FIKI and GILES 1981, MOORE and COOKSEY 1981/, ahol a kártétel szintén rendkívül jelentős, különösen az oltványiskolában.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Kísérleteinkben szőlőről izolált *A. tumefaciens* törzsek biotípusmeghatározásával, rezisztenciaforrások szelektálásával és az ellenállóképesség öröklésmenetével foglalkoztunk.

A 45 *Agrobacterium* izolátumból kettő az 1., míg a többi 43 a 3. biotípusba tartozik, egyezően a korábbi irodalmi adatokkal. A 3. biotípusú törzsek az 1. és 2. biotípushoz képest szűk gazdanövénykörűek és rezisztensek az agrocin 84-el szemben. Közülük kettő patogén borsón és Daturán, hét csak Daturán a többi 36 egyik növényfajon sem. Intenzívebben hasznosítják az L/+/-tartarátot, mint a glükózt, mely magyarázatot ad a 3. biotípus gazdaspecializációjára.

Rezisztenciaszelekciós kísérleteinkben hat *Vitis* fajt, 5 direkttermő fajtát, 27 francia-amerikai, 31 amuri interspecifikus hibridet és 38 európai fajtát teszteltünk az 1. biotípusú AT-4 és a 3. biotípusú AT-1 törzsszel szembeni fogékonyságra. A legnagyobb számú ellenálló anyagot a *V. amurensis* eredetű interspecifikus hibridekből kaptuk. Az AT-4 és AT-1 törzsszel szemben ellenálló hibridek /fajták/ rezisztensek voltak további kettő 1., kettő 2. és négy 3. biotípusú törzsszel szemben is, de közülük néhányon az 1. biotípusú Ach-5 és B-6 patogén volt. A *V. vinifera* fajták mindegyike érzékeny volt az AT-4 és AT-1 törzsekkel szemben.

Az ellenállóképesség öröklésmenetét az amuri eredetű

interspecifikus hibrideken tanulmányoztuk. A rezisztencia a petesejttel és pollennel egyaránt átöröklődik, a reciprok keresztezésekben a hasadási arány közel 1:1 volt. A rezisztens fenotípusú szülők sajátbeporzású magoncainak 74,3%-a ellenálló, 25,7%-a pedig érzékeny volt, ami megfelel a 3:1 aránynak. Az érzékeny fenotípusú szülők sajátbeporzású magoncai között nem volt ellenálló. Eredményeink alapján az amuri eredetű hibridekben a rezisztenciát egy domináns gén határozza meg.

A rezisztencianemesítés hatékony módszert nyújthat a szőlő golyvás betegségének megelőzésére. Az egygénés domináns öröklésment lehetővé teszi, hogy egy ellenálló "vad" *Vitis* fajból kiindulva többszöri visszakeresztezéssel nagyszámú, ellenálló hibridet kapjunk, melyek termesztési értéke eléri a *V. vinifera* fajtákét.

6. IRODALOM

1. ALLEN, O.N. and HOLDING, A.J. /1974/: Genus II. *Agrobacterium*. in: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 8th Edition: 264-267. Ed.: Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E., Williams and Wilkins Co., Baltimore
2. ANDERSON, A.R. and MOORE, L.W. /1979/: Host specificity in the genus *Agrobacterium*. *Phytopathology* 69: 320-323
3. ARSENIJEVIC, M., STOJIC, J. and PANIC, M. /1974/: Contribution to the study of bacterial canker of the grapevine /*Agrobacterium tumefaciens*/. *Zastita bilja*, Beograd 25: 257-264
4. BANERJEE, D., BASU, M., CHOUDHURY, I. and CHATTERJEE, G.C. /1981/: Cell surface carbohydrates of *Agrobacterium tumefaciens* involved in adherence during crown gall tumor initiation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 100: 1384-1388
5. BAZZI, C. and ROSCIGLIÒNE, B. /1982/: *Agrobacterium tumefaciens* biotype 3, casual agent of crown gall on *Chrysanthemum* in Italy. *Phytopath. Z.* 103: 280-284
6. BECKING, J.H. /1974/: Family III. Frankiaceae. in: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*: 701-706 /see: ref.1./
7. BERNAERTS, M.I. and DE LEY, J. /1963/: A biochemical test for crown gall bacteria. *Nature*, London 197: 406-407
8. BOMHOFF, G., KLAPWIJK, P.M., KESTER, M.C., SCHILPEROORT, R.A., HERNALSTEENS, J.P. and SCHELL, J. /1976/: Octopine and nopaline synthesis and breakdown genetically controlled by a plasmid of *Agrobacterium tumefaciens*. *Mol.gen.Genet.* 145: 177-181
9. BRAUN, A.C. /1948/: Studies on the origin and development of plant teratomas incited by the crown gall bacterium. *Am.J.Bot.* 35: 511-519
10. BRAUN, A.C. /1953/: Bacterial and host factors concerned in determining tumor morphology in crown-gall. *Bot.Gaz.* 114: 363-371
11. BRAUN, A.C. and STONIER, T. /1958/: Morphology and physiology of plant tumors. *Protoplasmatologia*, Band X 5a, Springer-Verlag, Wien
12. BRAUN, A.C. and WOOD, H.N. /1976/: Suppression of the neoplastic state with the acquisition of specialized functions in cells, tissues and organs of crown gall teratomas of tobacco. *Proc.Natl.Acad. Sci. USA* 73: 496-500

13. BRAUN, A.C. /1978/: Plant tumors. Biochem. Biophys. Acta 516: 167-191
14. BURR, T.J. and KATZ, B.H. /1983/: Isolation of *Agrobacterium tumefaciens* Biovar 3 from grapevine galls and sap and from vineyard soil. Phytopathology 73:163-165
15. CHAMBERLAIN, G.C. /1962/: The occurrence of aerial crown gall of grape vines in the Niagara peninsula of Ontario. Can.Plant Dis.Survey 42: 208-211
16. CHILTON, M.-D., DRUMMOND, M.H., MERLO, D.J., SCIAKY, D., MONTOYA, A.L., GORDON, M.P. and NESTER, E.W. /1977/: Stable incorporation of plasmid DNA into higher plant cells, the molecular basis of crown gall tumorigenesis. Cell 11: 263-271
17. CHILTON, M.-D., SAIKI, R.K., YADAV, N., GORDON, M.P. and QUETIER, F. /1980/: T-DNA from *Agrobacterium Ti*-plasmid is in the nuclear DNA fraction of crown-gall tumor cells. Proc.Natl.Acad.Sci. USA 77: 4060-4064
18. CLAEYS, M., VAN MONTAGU, M., MESSENS, E. and SCHELL, J. /1978/: GC/MS determination of cytokinins in *Agrobacterium tumefaciens* cultures. Fresenius Z.Anal.Chem. 290: 125-126
19. COXON, T., DAVIES, M.C., FENWICK, G.R., SELF, R., FIRMIN, J.L., LIPKIN, D. and JANES, N.F. /1980/: Agropine, a new amino acid derivative from crown gall tumours. Tetrahedron Letters 21: 495-498
20. CSEPREGI, P. és ZILAI, J. /1960/: Direkttermő és peronoszpóra ellenálló fajták. in: Szőlőfajtáink, 2. kiadás, 343-364. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
21. CSORBA, Z. és BEREND, I. /1965/: Ascomycetes: Taphrinaceae. in: Növénykórtan: 106-123. Ed: Ubrizsy, G., Akadémiai Kiadó, Budapest
22. CROCE, C.M. /1981/: Integration of oncogenic viruses in mammalian cells. Internat.Rev.Cytol. 71: 1-17
23. DE CLEENE, M. and DE LEY, J. /1976/: The host range of crown gall. Bot.Rev. 42: 389-466
24. DE CLEENE, M. /1979/: Crown gall: economic importance and control. Zbl.Bakt.II. Abt. 134: 551-554
25. DE CLEENE, M. and DE LEY, J. /1981/: The host range of infectious hairy-root. Bot.Rev. 47: 147-194
26. DELLAPORTA, S.L. and PESANO, R.L. /1981/: Plasmid studies in crown gall tumorigenesis. Internat.Rev.Cytol.Suppl. 13: 83-103
27. DOUGLAS, C.J., HALPERIN, W. and NESTER, E.W. /1982/: *Agrobacterium tumefaciens* mutants affected in attachment to plant cells. J.Bacteriol. 152: 1265-1275

28. DRUMMOND, M.H., GORDON, M.P., NESTER, E.W., and CHILTON, M.-D. /1977/: Foreign DNA of bacterial plasmid origin is transcribed in crown gall tumours. *Nature*, London 269:535-536
29. DRUMMOND, M.H. /1979/: Crown gall disease. *Nature*, London 281:343-347
30. EINSET, J.W. and CHENG, A.C. /1979a/: Temperature sensitive loss of tumor characteristics in a tobacco crown gall strain. *In vitro* 15:917-921
31. EINSET, J.W. and CHENG, A.C. /1979b/: Regeneration of tobacco plants from crown gall tumors. *In vitro* 15:703-708
32. EL-FIKI, F. and GILES, K.L. /1981/: *Agrobacterium tumefaciens* in agriculture and research. *Internat. Rev. Cytol. Suppl.* 13:47-58
33. ELLIS, J.G., KERR, A., TEMPÉ, J. and PETIT, A. /1979/: Arginine catabolism: a new function of both octopine and nopaline Ti-plasmids of *Agrobacterium*. *Mol. gen. Genet.* 173:263-269
34. ELLIS, J.G. and MURPHY, P.J. /1981/: Four new opines from crown-gall tumours - their detection and properties. *Mol. gen. Genet.* 181:36-43
35. ELLIS, J.G. et al. /1982/: Conjugal transfer of nopaline and agropine Ti-plasmids - the role of agrocinopines. *Mol. gen. Genet.* 186:269-275
36. ENGLER, G., HOLSTERS, M., VAN MONTAGU, M., SCHELL, J., HERNALSTEENS, J.P. and SCHILPEROORT, R.A. /1975/: Agrocin 84 sensitivity: a plasmid determined property in *Agrobacterium tumefaciens*. *Mol. gen. Genet.* 138:345-349
37. ESPINO, R.R.C. and NESBITT, W.B. /1982/: Inheritance of downy mildew resistance in grapes /*Vitis* sp./. *HortScience* 17 /3/:499
38. FIRMIN, J.L. and FENWICK, G.R. /1978/: Agropine: a major new plasmid determined metabolite in crown-gall tumours. *Nature*, London 276:842-844
39. GALLOWAY, D.A. and McDOUGALL, J.K. /1983/: The oncogenic potential of herpes simplex viruses: evidence for a "hit-and-run" mechanism. *Nature*, London 302:21-24
40. GELVIN, S.B., GORDON, M.P., NESTER, E.W. and ARONSON, A.I. /1981/: Transcription of the *Agrobacterium* Ti-plasmid in the bacterium and in crown gall tumors. *Plasmid* 6:17-29
41. GENETELLO, C., VAN LAREBEKE, N., HOLSTERS, M., DE PICKER, A., VAN MONTAGU, M. and SCHELL, J. /1977/: Ti plasmids of *Agrobacterium* as conjugative plasmids. *Nature*, London 265:561-563

42. GLOKOWSKI, W. and GALSKEY, A.G. /1978/: *Agrobacterium tumefaciens* site attachment as a necessary prerequisite for crown gall tumor formation on potato discs. *Plant Physiol.* 61:1031-1033
43. GRESSHOFF, P.M., SKOTNICKI, M.L. and ROLFE, B.G. /1979/: Crown gall teratoma formation is plasmid and plant controlled. *J. Bacteriol.* 137:1020-1021
44. GURLEY, W.B., KEMP, J.D., ALBERT, M.J., SUTTON, D.W. and CALLIS, J. /1979/: Transcription of Ti-plasmid derived sequences in three octopine type crown-gall tumour lines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76:2828-2832
45. GUYON, P., CHILTON, M.-D., PETIT, A. and TEMPE, J. /1980/: Agropine in "null-type" crown gall tumors: evidence for generality of the opine concept. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:2693-2697
46. HOLMES, B. and ROBERTS, P. /1981/: The classification, identification and nomenclature of agrobacteria. *J. Appl. Bacteriol.* 50:443-467
47. HOLSTERS, M., SILVA, B., VAN VLIET, F., HERNALSTEENS, J.P., GENETELLO, C., VAN MONTAGU, M. and SCHELL, J. /1978/: In vivo transfer of the Ti-plasmid of *Agrobacterium tumefaciens* to *Escherichia coli*. *Mol. gen. Genet.* 163: 335-338
48. HOOYKAAS, P.J.J., SCHILPEROORT, R.A. and RÖRSCH, A. /1978/: *Agrobacterium* tumor inducing plasmids: potential vectors for the genetic engineering of plants. in: *Genetic engineering* 1:151-179
49. HOOYKAAS, P.J.J., ROOBOL, C. and SCHILPEROORT, R.A. /1979/: Regulation of the transfer of Ti-plasmids of *Agrobacterium tumefaciens*. *J. Gen. Microbiol.* 110:99-109
50. JORDAN, D.C. and ALLEN, O.N. /1974/: Genus I. *Rhizobium*. in: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*: 261-263 /see: ref.1./.
51. KERR, A. and PANAGOPOULOS, C.G. /1977/: Biotypes of *Agrobacterium radiobacter* var. *tumefaciens* and their biological control. *Phytopath. Z.* 90:172-179
52. KERR, A. /1980/: Biological control of crown gall through production of agrocin 84. *Plant Disease* 64:25-30
53. KERSTERS, K., DE LEY, J., SNEATH, P.H.A. and SACKIN, M. /1973/: Numerical taxonomic analysis of *Agrobacterium*. *J. Gen. Microbiol.* 78:227-239
54. KLEMENT, Z. /1965/: *Baktériumos növénybetegségek*. in: *Növénykórtan*:407-556 Ed: Ubrizsy G., Akadémiai Kiadó, Budapest.

55. KNAUF, V.C., PANAGOPOULOS, C.G. and NESTER, E.W. /1982/: Genetic factors controlling the host range of *Agrobacterium tumefaciens*. *Phytopathology* 72:1545-1549
56. KOLEDA, I. /1975/: Ergebnisse von Kreuzungen zwischen *Vitis amurensis* und *Vitis vinifera* in der Züchtung frostwiderstandsfähiger Reben. *Vitis* 14:1-5
57. LEMMANS, J., DE GREEVE, M., HERNALSTEENS, J.P., SHAW, C.H., WILLMITZER, L., OTTEN, L., VAN MONTAGU, M. and SCHELL, J. /1982/: Ti plasmids and directed genetic engineering. in: *Molecular Biology of Plant Tumors*:537-545. Ed: Kahl, G. and Schell, J. Academic Press, New York.
58. LEHOCZKY, J. /1968/: A baktériumos golyvásodás rosszindulatú folyamata szőlőn. *Az Országos Szőlészeti és Borászati Kutató Intézet Évkönyve* 12:115-126
59. LEHOCZKY, J. /1971/: Further evidences concerning the systemic spreading of *Agrobacterium tumefaciens* in the vascular system of grapevines. *Vitis* 10:215-221
60. LEHOCZKY, J. /1978/: Root-system of the grapevine as a reservoir of *Agrobacterium tumefaciens* cells. *Proc. 4th Int. Conf. Plant. Path. Bact.-Amgers*:239-243
61. LEHOCZKY, J. /1979/: Effect of nalidixic acid on the growth of *Agrobacterium tumefaciens* strains isolated from grapevines. *Acta. Phytopath. Acad. Sci. Hung.* 14:89-93
62. LEHOCZKY, J. /1980/: A 8-hidroxikinolin-szulfát hatása az *Agrobacterium tumefaciens* növekedésére in vitro és a szőlővesszőben in vivo. *Kertgazdaság* 12:27-34
63. LEMANOVA, N.B. /1979/: Les tumeurs bactériennes /*Agrobacterium tumefaciens*/ de la vigne. *Biologie du parasite. Bulletin de L'O.I.V.* 52:529-539
64. LEMMERS, M., BEUCKELEER, M., HOLSTERS, M., ZAMBRYSKI, P., DEPICKER, A., HERNALSTEENS, J.P., VAN MONTAGU, M. and SCHELL, J. /1980/: Internal organization, boundaries and integration of Ti-plasmid DNA in nopaline crown-gall tumors. *J. Mol. Biol.* 144:353-376
65. LIPPINCOTT, J.A. and LIPPINCOTT, B.B. /1975/: The genus *Agrobacterium* and plant tumorigenesis. *Ann. Rev. Microbiol.* 29:377-405
66. LIPPINCOTT, J.A., LIPPINCOTT, B.B. and STARR, M.P. /1981/: The genus *Agrobacterium*. in: *The Prokaryotes*:842-855 Ed: Starr, M.P. et al. Springer-Verlag
67. LIU, S.T. and KADO, C.I. /1979/: Indolacetic acid production of *Agrobacterium tumefaciens* C58. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 90:171-178

68. LOPER, J.E. and KADO, C.I. /1979/: Host range conferred by the virulence specifying plasmid of *Agrobacterium tumefaciens*. *J.Bacteriol.* 139:591-586
69. LOUBSER, J.T. /1978/: Identification of *Agrobacterium tumefaciens* biotype 3 on grapevine in South Africa. *Plant Dis.Reptr.* 62:730-731
70. MALENIN, I. /1973/: Studies on the resistance of some grapevine /*Vitis vinifera*/ varieties to bacterial canker. *Gradinarszka i Lozarszka Nauka* 10:101-104
71. MÁRTON, L., WULLEMS, G.J., MOLENDIJK, L. and SCHILPEROORT, R.A. /1979/: In vitro transformation of cultured cells from *Nicotiana tabacum* by *Agrobacterium tumefaciens*. *Nature, London* 227:129-131
72. MATTHYSSE, A.G. and STUMP, A.J. /1976/: The presence of *Agrobacterium tumefaciens* plasmid DNA in crown gall tumor cells. *J.Gen.Microbiol.* 95:9-16
73. MATTHYSSE, A.G., WYMAN, P.M. and HOLMES, K.V. /1978/: Plasmid-dependent attachment of *Agrobacterium tumefaciens* to plant tissue culture cells. *Infect.Immun.* 22: 516-522
74. MATTHYSSE, A.G., HOLMES, K.V. and GURLITZ, R.H.G. /1981/: Elaboration of cellulose fibrils by *Agrobacterium tumefaciens* during attachment to carrot cells. *J.Bacteriol.* 145:583-595
75. MATTHYSSE, A.G. and GURLITZ, R.H.G. /1982/: Plant cell range for attachment of *Agrobacterium tumefaciens* to tissue culture cells. *Physiol.Plant Pathol.* 21:381-387
76. MCPHERSON, J.C., NESTER, E.W. and GORDON, M.P. /1980/: Proteins encoded by *Agrobacterium tumefaciens* Ti plasmid DNA /T-DNA/ in crown gall tumors. *Proc.Natl.Acad. Sci. USA* 77:2666-2670
77. MEIJER, E.G.M. and BROUGHTON, W.J. /1982/: Biology of Legume-Rhizobium interactions in nodule formation. in: *Molecular Biology of Plant Tumors*:107-129. /see:ref.57/.
78. MILLER, H.J. and VRUGGINK, H. /1981/: An assesment of biochemical and serological tests for *Agrobacterium radiobacter* subsp. *tumefaciens*. *Phytopath.Z.* 102:292-300
79. MISRA, A. and NIENHAUS, F. /1977/: Inhibition of virus-tumor formation in tobacco by antibiotics. *Phytopath.Z.* 89:76-81
80. MOORE, L.W. and WARREN, G. /1979/: *Agrobacterium radiobacter* strain 84 and biological control of crown gall. *Ann.Rev.Phytopathol.* 17:163-179

81. MOORE, L.W. and COOKSEY, D.A. /1981/: Biology of *Agrobacterium tumefaciens*: plant interactions. *Internat. Rev. Cytol. Suppl.* 13:15-46
82. MORTENSEN, J.A. /1981/: Sources and inheritance of resistance to anthracnose in *Vitis*. *J. Heredity* 72:423-426
83. MURAI, N. and KEMP, J.D. /1982/: Octopine synthase mRNA isolated from sunflower crown gall is homologous to the Ti-plasmid of *Agrobacterium tumefaciens*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79:86-90
84. NESTER, E.W. and KOSUGE, T. /1981/: Plasmids specifying plant hyperplasias. *Ann. Rev. Microbiol.* 35:531-565
85. OHYAMA, K., PERCHER, L.E., SCHAEFER, A. and FOWKE, L. /1979/: In vitro binding of *Agrobacterium tumefaciens* to plant cells from suspension culture. *Plant. Physiol.* 63:382-387
86. OWENS, L.D. /1982/: Characteristics of teratomas regenerated in vitro from octopine-type crown gall. *Plant. Physiol.* 69:37-40
87. PANAGOPOULOS, C.G. and PSALLIDAS, P.G. /1973/: Characteristics of Greek isolates of *Agrobacterium tumefaciens* /Smith and Townsend/ *Conn. J. Appl. Bacteriol.* 36:233-240
88. PANAGOPOULOS, C.G., PSALLIDAS, P.G., ALIVIZATOS, A.S. /1978/: Studies on biotype 3 of *Agrobacterium radiobacter* var. *tumefaciens*. *Proc. 4th Int. Cont. Plant Path. Bact.-Angers* 221-228
89. PANAGOPOULOS, C.G., PSALLIDAS, P.G., and ALIVIZATOS, A.S. /1979/: Evidence of a breakdown in the effectiveness of biological control of crown gall. in: *Soil-borne plant pathogens*:569-578. Ed: Schippers, B. and Gams, W. Academic Press, New York
90. PERRY, K.L. and KADO, C.I. /1982/: Characteristics of Ti-plasmids from broad-host-range and ecologically specific biotype 2 and 3 strains of *Agrobacterium tumefaciens*. *J. Bacteriol.* 151:343-350
91. PETIT, A., TEMPE, J., KERR, A., HOLSTERS, M., VAN MONTAGU, M. and SCHELL, J. /1978/: Substrate induction of conjugative activity of *Agrobacterium tumefaciens* Ti plasmids. *Nature, London* 271:570-571
92. RAJKOV, E. /1967/: Bakterialen rak po lozata /*Bacterium tumefaciens*/. *Gradinarszka i Lozarszka Nauka* 4:97-104
93. RAO, S.S., LIPPINCOTT, B.B. and LIPPINCOTT, J.A. /1982/: *Agrobacterium* adherence involves the pectic portion of the host cell wall and is sensitive to the degree of pectin methylation. *Physiol. Plant.* 56:374-380
94. REAM, L.W. and GORDON, M.P. /1982/: Crown gall disease and prospects for genetic manipulation of plants. *Science* 218:854-859

95. REGIER, D.A. and MORRIS, R.O. /1982/: Secretion of trans-zeatin by *Agrobacterium tumefaciens*: a function determined by the nopaline Ti-plasmid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 104:1560-1566
96. ROBERTS, W.P. /1982/: The molecular basis of crown gall induction. *Internat. Rev. Cytol.* 80:63-92
97. ROGLER, C. /1980/: Plasmid dependent temperature-sensitive phase in crown gall tumorigenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:2688-2692
98. ROHFRIETSCH, O. and SHORTHOUSE, J.D. /1982/: Insect galls. in: *Molecular biology of Plant Tumors*:131-152. /see: ref. 57/.
99. ROIZES, G., PAGES, M., LECON, C., PATILLON, M. and KOVOOR, A. /1979/: A new-site specific endonuclease showing phenotypical crypticity in a tumorigenic strain of *Agrobacterium tumefaciens*. *Gene* 6:43-50
100. SALLE, A.J. /1973/: Bacterial and viral diseases of plants. in: *Fundamental principles of bacteriology*:982-1004 Ed: Young, J.R., Margolies, J. and Margolies, M.E., McGraw Hill Book Company
101. SASS, B. /1972/: Az *Agrobacterium tumefaciens* /E.F. Smith et Townsend/ *Conn elleni* vegyszeres védekezés lehetőségei. *Növényvédelem* 8:442-446
102. SCHELL, J. /1975/: The role of plasmids in crown gall formation by *A. tumefaciens*. in: *Genetic manipulations with plant material*:163-181. Ed: Ledoux, L. Plenum Publ. Corp., New York
103. SCHILPEROORT, R.A. and BOMHOFF, G.H. /1975/: Crown gall: a model for tumor research and genetic engineering. in: *Genetic manipulations with plant material*:141-162 Ed: Ledoux, L. Plenum Publ. Corp. New York
104. SCHRÖDER, G. et al /1983/: The conserved part of the T-region in Ti-plasmids expresses four proteins in bacteria. *Embo Journal* 2:403-410
105. SCOTT, I.M., FIRMIN, J.L., BUTCHER, D.N., SEARLE, L.M., SOGEKE, A.K., EAGLES, J., MARCH, J.F., SELF, R. and FENWICK, G.R. /1979/: Analysis of a range of crown gall and normal plant tissues for Ti-plasmid-determined compounds. *Mol. gen. Genet.* 176:57-65
106. SHIKATA, E. /1981/: Reoviruses. in: *Handbook of plant virus infections and comparative diagnosis*:423-451 Ed: Kurstak, E. Elsevier /North-Holland Biomedical Press
107. SMITH, E.F. and TOWNSEND, C.O. /1907/: A plant tumor of bacterial origin. *Science* 25:671-673

108. SÜLE,S és KOLLÁNYI,L. /1977/: Biológiai védekezés a málna agrobaktériumos gyökérgolyvája ellen. Növényvédelem 13:241-245
109. SÜLE,S. /1978a/: Biotypes of *Agrobacterium tumefaciens* in Hungary. J.Appl.Bacteriol. 44:207-213
110. SÜLE,S. /1978b/: Pathogenicity and agrocin 84 resistance of *Agrobacterium tumefaciens*. Proc.4th Int.Conf.Plant Path.Bact.-Angers:255-257
111. SÜLE,S. and KADO,C.I. /1980/: Agrocin resistance in virulent derivatives of *Agrobacterium tumefaciens* harboring the pTi plasmid. Physiol.Plant Path. 17:347-356
112. SZEGEDI,E. /1981/: Szőlőfajták *Agrobacterium tumefaciens* /Smith et Townsend/ Conn-el szembeni fogékonysága. Növényvédelem 17:442-450
113. TEMPÉ,J., PETIT,A., HOLSTERS,M., VAN MONTAGU,M. and SCHELL,J. /1977/: Thermosensitive step associated with transfer of the Ti plasmid during conjugation: possible relation to transformation in crown gall. Proc. Natl.Acad.Sci. USA 74:2848-2849
114. TEMPÉ,J. and PETIT,A. /1982/: Opine utilization by *Agrobacterium*. in: Molecular Biology of plant Tumors:451-459. /see: ref. 57/.
115. TEMPÉ,J. and GOLDMANN,A. /1982/: Occurrence and biosynthesis of opines. in: Molecular Biology of Plant Tumors: 427-449. /see: ref.57/.
116. THOMASHOW,M.F., PANAGOPOULOS,C.G., GORDON,M.P. and NESTER,E.W. /1980/: Host range of *Agrobacterium tumefaciens* is determined by the Ti plasmid. Nature, London 283: 794-796
117. THOMASHOW,M.F., NUTTER,R., MONTOYA,A.L., GORDON,M.P. and NESTER,E.W. /1980/: Integration and organization of Ti plasmid sequences in crown gall tumors. Cell 19: 729-739
118. TURGEON,R. /1982/: Teratomas and secondary tumors. in: Molecular Biology of Plant Tumors:391-414. /see: ref.57/.
119. URBIZAGASTEGUI,A.E. and FERNANDEZ-NORTHCOTE,E.N. /1975/: Isolation and identification of causal agent of crown-gall of deciduous fruit trees in Peru. Fitopatología, Peru 10:32-40
120. VAN LAREBEKE,N., ENGLER,G., HOLSTERS,M., VAN DEN ELSACKER,S., ZAENEN,I., SCHILPEROORT,R.A. and SCHELL,J. /1974/: Large plasmid in *Agrobacterium tumefaciens* essential for crown gall-inducing ability. Nature, London 252:169-170

121. VAN LAREBEKE, N., GENETELLO, C., SCHELL, J., SCHILPEROORT, R.A., HERMANS, A.K., HERNALSTEENS, J.P. and VAN MONTAGU, M. /1975/: Acquisition of tumour-inducing ability by non-oncogenic agrobacteria as a result of plasmid transfer. *Nature*, London 742-743
122. VAN MONTAGU, M., HOLSTERS, M., ZAMBRYSKI, P., HERNALSTEENS, J.P., DEPICKER, A., DE BEUCKLEER, M., ENGLER, G., LEMMERS, M., WILLMITZER, L. and SCHELL, J. /1980/: The interaction of *Agrobacterium tumefaciens* Ti-plasmid DNA and plant cells. *Proc.R.Soc.London, Ser.B* 210: 351-365
123. VAN MONTAGU, M. and SCHELL, J. /1982/: The Ti plasmids of *Agrobacterium*. in: *Current Topics in Microbiology and Immunology* 96:237-254. Ed: Henle, W. et al. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg
124. WATSON, B., CURRIER, T.C., GORDON, M.P., CHILTON, M.D. and NESTER, E.W. /1975/: Plasmid required for virulence of *Agrobacterium tumefaciens*. *J.Bacteriol.* 123:255-264
125. WHATLEY, M.H., MARGOT, J.B., SCHELL, J., LIPPINCOTT, B.B. and LIPPINCOTT, J.A. /1978/: Plasmid and chromosomal determination of *Agrobacterium* adherence specificity. *J.Gen.Microbiol.* 107:395-398
126. WILLMITZER, L., BEUCKLEER, M.D., LEMMERS, M., VAN MONTAGU, M. and SCHELL, J. /1980/: DNA from Ti plasmid present in nucleus and absent from plastids of crown gall cells. *Nature*, London 287:359-361
127. WILLMITZER, L., SCHMALENBACH, W. and SCHELL, J. /1981/: Transcription of T-DNA in octopine crown-gall tumors is inhibited by low concentrations of α -amanitin. *Nucl.Acids Res.* 9:4801-4812
128. WILLMITZER, L., SIMONS, G. and SCHELL, J. /1982/: The TL-DNA in octopine crown-gall tumours codes for seven well-defined polyadenylated transcripts. *Embo Journal* 1:139-146
129. WILSON, E.E. and MAGIE, A.R. /1964/: Systemic invasion of the host plant by the tumor inducing bacterium, *Pseudomonas savastanoi*. *Phytopathology* 54:576-579
130. WOOD, R.K. /1967/: Alterations in the growth-patterns of plants. in: *Physiological Plant Pathology* 228-286 Blackwell Scientific Publications, Oxford
131. WULLEMS, G.J., MOLENDIJK, L. and SCHILPEROORT, R.A. /1980/: The expression of tumour markers in intraspecific somatic hybrids of normal and crown gall cells from *Nicotiana tabacum*. *Theor.Appl.Genet.* 56:203-208
- 125.a. WHATLEY, M.M., BODWIN, J.S., LIPPINCOTT, B.B. and LIPPINCOTT, J.A. /1976/: Role for *Agrobacterium* cell envelope lipopolysaccharide in infection site attachment. *Infect. Immun.* 13:1080-1083

132. ZAENEN, I., VAN LAREBEKE, N., TEUCHY, H., VAN MONTAGU, M. and SCHELL, J. /1974/: Supercoiled circular DNA in crown gall inducing *Agrobacterium* strains. *J.Mol. Biol.* 86:107-127
133. ZAMBRYSKI, P., HOLSTERS, M., KRUGER, K., DEPICKER, A., SCHELL, J., VAN MONTAGU, M. and GOODMAN, H.M. /1980/: Tumor DNA structure in plant cells transformed by *A. tumefaciens*. *Science* 209:1385-1390
134. ZINCA, N. /1979/: Les tumeurs bacteriennes /*Agrobacterium tumefaciens*/ de la vigne. *Methodes de Lutte. Bulletin de L'O.I.V.* 52:540-551
135. YADAV, N.S., POSTLE, K., SAIKI, R.K., THOMASHOW, M.F. and CHILTON, M.-D. /1980/: T-DNA of a crown gall teratoma is covalently joined to host plant DNA. *Nature, London* 287:458-461
136. YANG, F., MCPHERSON, C., GORDON, M.P. and NESTER, E.W. /1980/: Extensive transcription of foreign DNA in a crown gall teratoma. *Biochem.Biophys.Res. Commun.* 92:1273-1277

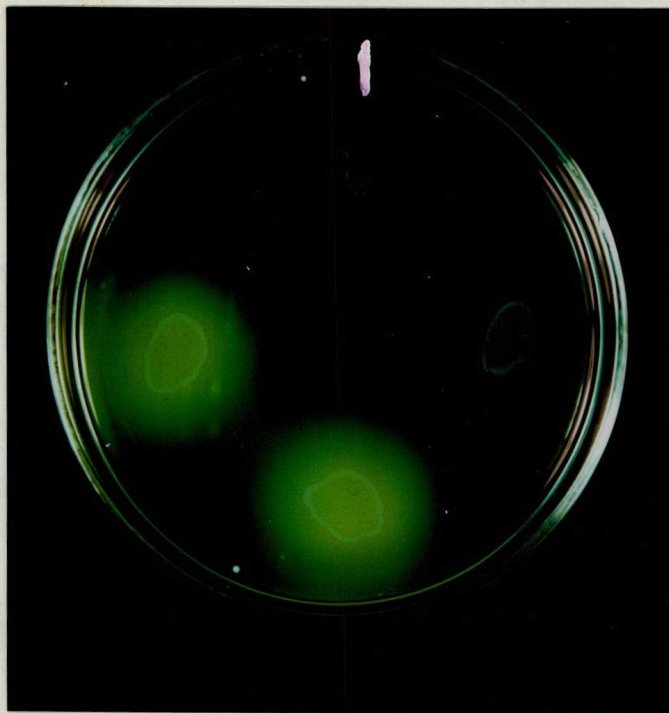
7. FOTOMELLÉKLET



1. kép

Természetes fertőzés szőlőn. A törzs alsó részén látható intenzív tumorképződés akadályozza a gyökér és lomb közötti tápanyagszállítást, ami a tőke legyengülését, pusztulását okozza.

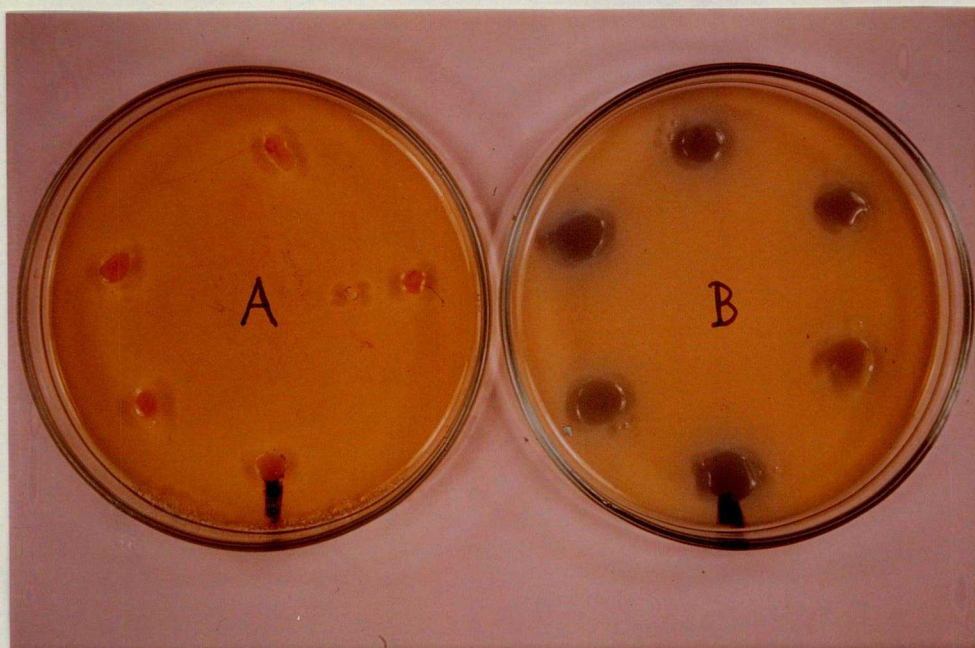
Foto: Mikulás J.



2. kép

A 3-ketolaktóz teszt. A jelzéstől az óramutató szerint: AT-1, AT-2 /3-ketolaktóz negatív/, AT-3 és AT-4 /3-ketolaktóz pozitív/ törzsek. A sárga színt a Cu_2O kiválása okozza, a folyamat analóg a Fehling-reakcióval.

Foto: Ferenczi E.



3. kép

Glükóz és L/+/-tartarát hasznosítás a 2. és 3. biotípusú törzseknél. A 2. biotípusú törzsek /A/ sárga /savképzés=glükóz asszimiláció/, a 3. biotípusú törzsek /B/ kék /lúgos pH változás=tartarát asszimiláció/ színűek ugyanazon a táptalajon, 48 órás inkubáció után.

Foto: Ferenczi E.



4. kép

Az *A. tumefaciens*-el szemben érzékeny Magnélküli fajtán a fertőzés helyén intenzív tumorképződés látható.

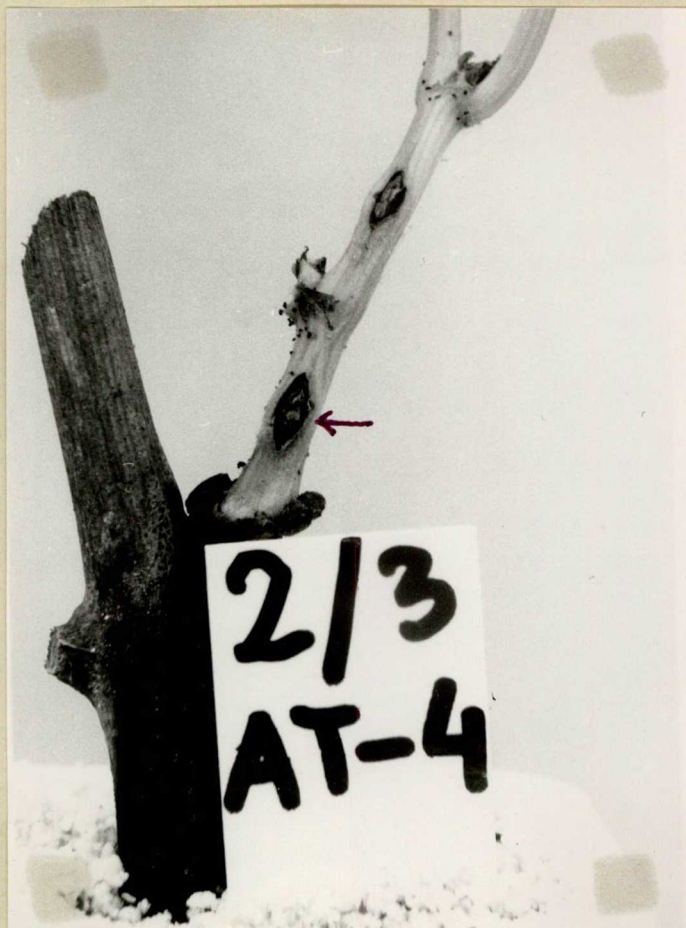
Foto: Haydú Zs.



5. kép

Az AT-4 törzssel szemben rezisztens A5/43 hibrid.

Foto: Haydú Zs.



6. kép

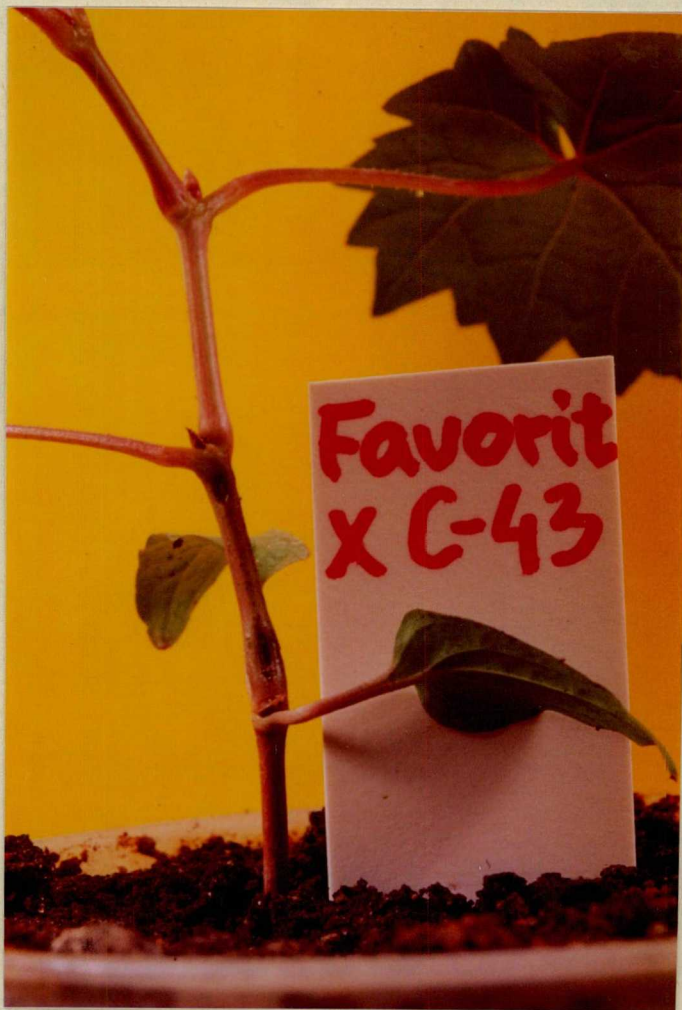
Az A4/24 hibriden néhány infekciós helyen az AT-4 törzs gyenge tumorképződést indukált.

Foto: Haydú Zs.



7. kép

Érzékeny magonc a Favorit x C-43 hibridcsaládból.
Foto: Ferenczi E.



8. kép

Rezisztens /Favorit x C-43/ hibrid.

Foto: Ferenczi E.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Munkám elkészítésében nyújtott támogatásért köszönetet mondok Dr. Zilai János igazgatónak, Dr. Oláh László tudományos főosztályvezetőnek és Dr. Mikulás József osztályvezetőnek.

Prof. Dr. Koleda Istvánnak, Dr. Kriszten Györgynek és ifj. Dr. Kozma Pálnak a nagyszámú és értékes anyagért.

Ferenczi Erikának és Dr. Haydú Zsoltnak a fotók igényes elkészítéséért.

Presenszki Zsuzsa és Czakóné Futó Edit tudományos ügyintézőknek a lelkiismeretes laboratóriumi asszisztenciáért és a kézirat gépeléséért.

Külön szeretném megköszönni Prof. Dr. Ferenczy Lajosnak értékes szakmai és módszertani tanácsait, mellyel munkámat mindvégig segítette.