A LALININA NUCLSELLENCIAJA A MULLOUDOUNE INCOGNITA (KOFOID ET WHITE, 1919) CHITWOOD, 1949 FAJJAL SZEMBEN

Ács Tímea¹ – Pénzes Béla¹ – Ruthner Szabolcs² – Fail József¹

¹Budapesti Corvinus Egyetem, KTK, Rovartani Tanszék, Budapest ²Budapesti Corvinus Egyetem, KTK, Genetika Tanszék, Budapest

paprika zöldségnövények közül a hajtatási Magyarországon mintegy 2300 ha. A növényházakban termesztett paprika egyik legjelentősebb kártevője a kertészeti gyökérgubacs-fonálféreg, a Meloidogyne incognita (Kofoid et White /1919/) Chitwood /1949/. A kártétel mértéke rendszerint igen súlyos: a növények hervadnak, lankadnak, hiánytünetek jelentkeznek rajtuk, melyek a termésmennyiség csökkenését, illetve súlyos fertőzés esetén a növények korai előregedését eredményezik. Mindebből védekezés nélkül következik, hogy paprikatermesztés nem lehetséges.

A kártevő elleni védekezésnek többféle módja ismeretes. Alternatívát jelenthet a talajon való termesztésről a mesterséges közegen (pl. kőzetgyapot) történő termesztésre való áttérés. Ez a módszer azonban csak nagy költségráfordítás és technológiai fegyelem esetén ad kielégítő agrotechnikai módszerek közül vetésváltásnak a eredményt. Az gyakorlatilag nincs jelentősége, mivel a Meloidogyne incognita valamennyi, a hajtatásban szóba jöhető zöldségnövényt károsítja. A termesztőknek azért sincs lehetőségük a vetésváltásra, mert a termesztett növényt gyakorlatilag a piaci igények határozzák meg. Ekkor is fontos azonban a higiénés rendszabályok betartása, mely alatt a palánták fertőzésmentes közegben történő termesztése értendő. A védekezési módok közül a kémiai védekezés drága, és hatékonysága rendszerint nem kielégítő (Vydate 10 G, Basamid G).

A metil-bromidos gázosítás, mint kémiai védekezési eljárás jövőbeni használata korlátozott. Magyarország 1987-ben aláírta a Montreáli Jegyzőkönyvet, mely az ózonkárosító anyagok gyártását, kereskedelmét és felhasználását szabályozza. A jegyzőkönyv értelmében metil-bromidot tilos gyártani és importálni 2004. december 31. után, és a megvásárolt készleteket 2005. december 31-ig fel kell használni. Ez elkerülhetetlenné teszi új, környezetvédelmi és humántoxikológiai szempontból is kedvező védekezési módszerek kidolgozását.

Az oltás és a rezisztens fajták előállítása hatékony és környezetbarát alternatívát kínál a paprikahajtatásban is. Ma már számos vad-, illetve termesztett Solanaceae-fajnál ismertek rezisztencia-gének, melyek védelmet

nyújtanak különböző gyökérgubacs-fonálféreg fajokkal szemben. A hazánkban köztermesztésben lévő paprikafajták közül azonban egyelőre egyik sem rezisztens a kártevővel szemben, így a jövőben további rezisztencia-források felkutatása, a növényi rezisztenciában rejlő lehetőségek szélesebb körű kiaknázása elkerülhetetlennek látszik.

Irodalmi áttekintés

A rezisztenciakutatás a paprikánál (Capsicum spp.) már több mint fél évszázada megkezdődött. Martin (1948) gyökérgubacs-fonálféreggel (faji hovatartozása nem ismert) szemben rezisztens Cayenne-típusú paprikákat eredményeképpen 'Carolina Hot' 1958-ben melynek a forgalomba került. Hare (1956) 162 C. frutescens fajtát, illetve vonalat tesztelt a M. incognita acrita ellen. Vizsgálataiban 4 fűszerpaprika-fajta rezisztensnek bizonyult. A C. frutescens 'Santanka xS' vonalnál 3 fajjal (M. incognita, M. javanica és M. arenaria) szemben rezisztenciáért felelős domináns gént (N) talált (Hare, 1957). A pimiento-típusú 'Mississippi Nemaheart'-ot 1966-ban hozta forgalomba. Később Fery et al. (1986) egy 'Carolina Hot' populációból a M. incognita fajjal szemben rezisztens 'Carolina Cayenne' és 'Charleston Hot' fajtát szelektálta.

Hendy et al. (1983) C. annuum vonalakat vizsgáltak, melyek közül a PM217 és PM687 vonalak rezisztensnek bizonyultak különböző gyökérgubacs-fonálféreg populációkkal szemben (M. incognita, M. javanica és M. arenaria). Később megvizsgálták (Hendy et al., 1985) a rezisztencia öröklődését a 2 vonalnál, melynek során a Mel és Me2 nematóda rezisztencia-géneket találták a PM217, a Me3 és Me4 géneket a PM687 esetén. A Mel felelős a rezisztencia kialakításáért a M. incognita, M. javanica és M. arenaria fajokkal szemben, míg a Me2 a M. javanica fajjal szemben alakít ki rezisztenciát. Az Me3 gén felelős a rezisztencia kialakításáért a M. arenaria, M. incognita és M. javanica ellen, míg az Me4 az M. arenaria Ain Toujdate izolátumával szemben. Djian-Caporalino et al. (1999) az említett PM217 és PM687 vonalakon kívül a Criollo de Morelos 334 és Yolo NR vonalakat találták több fajjal szemben rezisztensnek.

Zamora és Bosland (1994) a 'Carolina Cayenne' fajtát vizsgálták a *M. incognita* 4 rasszával szemben, és megállapították, hogy valamennyi rasszal szemben rezisztens. Ugyanakkor a rezisztencia genetikai alapjairól nem közöltek adatokat. Fery és Dukes (1996) vizsgálataik során megállapították, hogy a 'Carolina Hot' rezisztenciáját a *M. incognita* fajjal szemben egy domináns és egy recesszív gén szabályozza.

Di Vito et al. (1992) a Capsicum chacoense, C. chinense, és a C. frutescens egyes vonalainál talált rezisztenciát különböző gyökérgubacs-fonálféreg fajokkal szemben (M. arenaria, M. incognita és M. javanica). Fery és Thies

(1996) 59 *C. chinense* tétel vizsgálata során 3-at talált, mely a *M. incognita* fajjal szemben rezisztens volt.

Magyarországon Amin (1994) a *C. annuum* 44 fajtáját vizsgálta, melyek közül 8 rezisztensnek bizonyult a *M. incognita* fajjal szemben. Budai *et al.* (1997) 10 fűszerpaprika-fajta és 5 étkezésipaprika-fajta ellenállóságát vizsgálták a *M. incognita* fajjal szemben, és a Kalocsai merevszárú, illetve a Szegedi 80-as fajtáknál rezisztenciát állapítottak meg.

Anyag és módszer

Kutatásainkat a Budapesti Corvinus Egyetem Kertészettudományi Kar Kísérleti Üzem növénynevelőjében végeztük 2004. január 15. és 2004. április 15. között. A vizsgálatok során 33 C. annuum L., C. chinense Jacq. és C. bacchatum L. var. pendulum paprikatétel (1. táblázat) ellenállóságát incognita fajjal szemben. A magokat kertészeti a *M*. gyökérgubacs-fonálféreggel súlyosan fertőzött talajba vetettük. A talaj Szeged térségében lévő növényházból származott, ahol előzőleg fogékony 'Blondy F1' fajtát termesztettek. A talajban lévő faj azonosítása céljából a 'Blondy F1' gyökerében lévő nőstények vulvakúpjából preparátumot készítettünk és a fajt Japson (1987) leírása alapján határoztuk meg. A határozás helyességét PCR-es fajmeghatározással igazoltuk. A fővények gyökeréről csipesszel leemelt tojászsákokat csapvízbe helyeztük, és a kikelt L2-es lárvákból ill. tojásokból a DNS-t Quiagen DNEasy Tissue Kit felhasználásával vontuk ki a megadott protokoll szerint. A M. incognita DNS-ének 1200 bp nagyságú szakaszát az OPB-06₁₂₀₀ Finc és az OPB-06₁₂₀₀ Rinc primer párokkal amplifikáltuk Zijlstra et al. (2000) leírása A PCR reakció 25µl reakció térfogatban a következőket tartalmazta: 10mM Tris (pH 9), 1,5 mM MgCl₂-t, 50mM KCl-t, 200 µM minden dNTP-ből, 0,5 egység Taq DNS polimeráz, 0,24 µM a két primerből, és 10 ng templát DNS. A reakciót 94°C-on (2 perc) indítottuk, majd 35 ciklust futtattunk (94°C-30mp, 54°C-30mp, 72°C-1 perc). A keletkezett fragmentumokat 1,5%-os agaróz gélen elválasztottuk A kész géleket ethidium bromidos festési eljárással kezeltük, és az UV fény alatt polaroid kamerával archíváltuk (1. ábra). Megállapítottuk, hogy elkülönített tenyészetben valóban a M. incognita faj van jelen. A növényeket a kelés után 1% e-es Volldünger-oldattal öntöztük ill. tápoldatoztuk. 2 lombleveles állapotban ritkítottuk őket, tételenként 10 növényt meghagyva. A fitotron hőmérsékletét 25-30°C-ra állítottuk be. Az értékelést a magvetés után 12 hét elteltével végeztük. A gyökérgubacsok ill. tojászsákok számát sztereomikroszkóp alatt határoztuk meg.

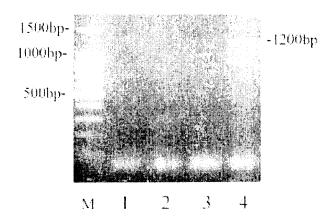
Az adatokat a Games-Howell statisztikai próbával elemeztük, amely a fajtákat páronként hasonlítja össze. A betűjelek a fajták érzékenységének elkülönítésére szolgálnak. Az azonos betűjellel jelölt fajták között statisztikailag igazolható különbség nincs (P=0,05).

1. táblázat: Vizsgált paprika tételek

Kódszám	Faj/Fajta	Származási hely
2.	C. annuum	Törökország
3.	C. annuum	Bulgária
4.	С. аппиит	Farmer Kft.
5.	С. аппиит	Farmer Kft.
6.		Farmer Kft.
	C. annuum	
7.	C. annuum	ZKI
8.	C. annuum	ZKI
9.	C. annuum	ZKI
10.	C. chinense	ZKI
11.	C. annuum	Royal Sluis
12.	C. annuum	Royal Sluis
17.	C. annuum	ZKI
18.	C. annuum	ZKI
20.	C. annuum	Bulgária
21.	C. annuum	Törökország
23.	C. annuum	Syngenta Seeds
24.	C. annuum	India
25.	C. annuum	India
26.	C. annuum	India
27.	C.baccatum var. pendulum	Royal Sluis
28.	C. annuum	India
29.	C. annuum	Magyarország
30.	C. annuum	India
32.	C. annuum	ZKI
36.	C. annuum	Royal Sluis
37.	С. аппиит	ZKI
38.	C. annum	Farmer Kft.
39.	С. аппиит	Bulgária
40.	С. аппиит	ZKI
42.	С. аппиит	Bulgária
43.	C. annum	India
44.	C. annuum	Távol-Kelet
45.	C. annuum	Dél-Amerika

A táblázatban a származtató cégek kérésére csak a fajokat jelöltük

PCR-reakció amplifikátum a M. meognia-specifikus OPB-06 primerrel

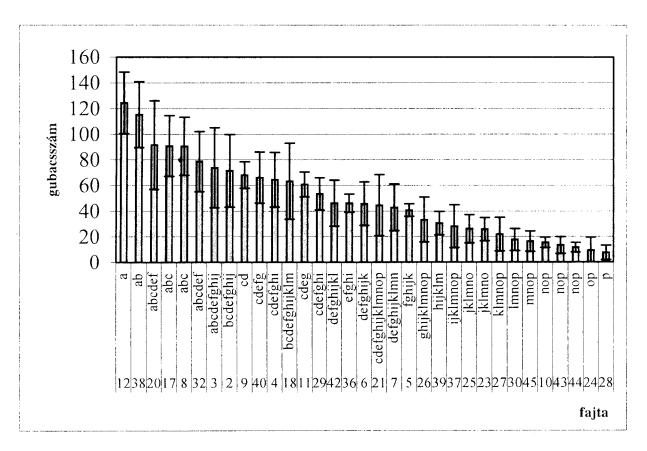


1. ábra: A *Meloidigyne incognita* PCR termékei OPB-06 primer alkalmazása esetén

Eredmények

A M. incognita valamennyi vizsgált fajtán kifejlődött, a kártétel mértéke azonban különböző volt az egyes tételeken. A M. incognita fajjal erősen fertőzött talaj jó tesztközegnek bizonyult, mivel a fajták közötti érzékenységbeli különbségek jól kimutathatók voltak (2. ábra). A kapott általunk korábban végzett, adatok megerősítik M. az incognita eredményeit. szuszpenzióval történt mesterséges fertőzés Mivel eredmények a két fertőzési módszer egybevethetőségét tükrözik, mindkét fertőzési módszer alkalmas a paprika fajták fonálféreg érzékenységének meghatározására, abban az esetben, ha a fonálféreg populáció faji hovatartozása egyértelműen megtörtént.

Az eredmények alapján a 10-es, 23-as, 24-es, 28-as, 30-as, 43-as, 44-es, illetve 45-ös kódszámmal jelölt tételek feltételezhetően rezisztensek a *M. incognita* fajjal szemben. A rezisztenciáért felelős gének meghatározása további vizsgálatokat igényel. A tételek érzékenységét a szabadföldi gyökérgubacs-fonálféreggel (*M. hapla*) szemben szabadföldön jelenleg teszteljük.



2. ábra: Paprika fajták és nemesítési alapanyagok érzékenysége M. incognita fonálféreg fajjal szemben (fertőzött talajon)

Irodalom

- Amin, W. A. (1994): Ecological and biological studies for the control of root-knot nematodes, *Meloidogyne* species in Hungary. Candidate Thesis.68-69.
- Budai, Cs., Nádasy, M. és Antal, A. (1997): Magyar paprikafajták rezisztenciavizsgálata *Meloidogyne incognita* gyökérgubacsfonálféreg fajjal szemben. Növényvédelem, 33(10): 509-512.
- Di Vito,M., Saccardo, F., Errico, A., Zaccheo, G. and Catalano, F.(1992): Geneticof resistance to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in *Capsicum chacoense*, *C. chinense* and *C. frutescens*. VIIIth Meeting "Genetics and Breeding on Capsicum and Eggplant", Rome, Italy, 7-10 September 1992, 205-209.
- Djian-Caporalino, C., Pijarowski, L., Januel, A., Lefebvre, V., Daubéze, A., Palloix, A., Dalmasso, A. and Abad, P. (1999): Spectrum of resistance to root-knot nematodes and inheritance of heat-stable resistance in pepper (*Capsicum annuum* L.) Theoretical and Applied Genetics, 99: 496-502.
- Fery, R.L., Dukes, P.D. and Ogle, W.L. (1986): 'Carolina Cayenne' pepper. HortScience, 21:330.

- Fery, R.L. and Dukes, P.D. (1996): The inheritance of resistance to the southern root-knot nematode in 'Carolina Hot' Cayenne pepper. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 121(6):1024-1027.
- Fery, R.L. and Thies, J.A. (1996): Evaluation of *Capsicum chinense* cultivars for resistance to *Meloidogyne incognita*. In: Proceedings of the national pepper conference. Alexandria, VA: American Society for Horticultural Science. p.34-35.
- Hare, WW. (1956): Resistance in pepper to *Meloidogyne incognita acrita*. Phytopathology, 46:98-104.
- Hare, WW. (1957): Inheritance of resistance to root knot nematodes in pepper. Phytopathology, 47:455-459.
- Hendy, H., Pochard, E. and Dalmasso, A. (1983): Identification de 2 nouvelles sources de résistance aux nématodes du genre *Meloidogyne* chez le piment *Capsicum anuum* L. Comptes rendus de l' Académie d' Agriculture 817-822.
- Hendy, H., Dalmasso, A. and Cardin, C. (1985): Differences in resistant *Capsicum annuum* attacked by different *Meloidogyne* species. Nematologica, 31: 72-78.
- Jepson, S. B. (1987) Identification of root-knot nematodes (Meloidogyne species) Oxon, Wallingford, CAB International
- Martin, J.A. (1948): Breeding of pungent peppes. South Carolina Agr. Expt. Sta. Ann. Rpt. (1946-47) 60: 64-67.
- Zamora, E. and Bosland, P.W. (1994): 'Carolina Cayenne' as a source of resistance to *Meloidogyne incognita* races 1, 2, 3, and 4
- Zijlstra, C., Donkers-Venne, D.T.H.M. and Fargette, M. (2000): Identification of *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* using sequence characterised amplified region (SCAR) based PCR assays. Nematology, 2 (8): 847-853.

THE RESISTANCE OF PEPPER TO *MELOIDOGYNE INCOGNITA* (KOFOID ET WHITE, 1919) CHITWOOD, 1949

T. Ács¹, B. Pénzes¹, Sz. Ruthner² and J. Fail¹

¹Corvinus University of Budapest, Department of Entomology ²Corvinus University of Budapest, Department of Genetics

Meloidogyne incognita is a major pest in pepper (Capsicum annuum L.) growing areas of Hungary. Due to the phase-out of methyl bromide from the Hungarian market in 2005, alternative control measures should be considered against the pest. Grafting or the use of resistant cultivars offer highly efficient and environmentally friendly ways of control. Pepper breeders have made sufficient efforts to develop pepper varieties with resistance to different Meloidogyne species all over the world. We evaluated 33 varieties and breeding lines belonging to C. annuum, C. chinense, and C. bacchatum var. pendulum for their resistance to M. incognita under greenhouse conditions. Seeds were sown into trays filled with soil severely infested with M. incognita. Both morphological and PCR analysis was used to identify the species. The damage caused on the roots was assessed 12 weeks later by counting the galls and egg masses under a stereo microscope. Games-Howell test was used for statistical analysis. We have found that the level of susceptibility differed significantly among the varieties and breeding lines. 7 lines with potential resistance against Meloidogyne incognita were chosen and have been tested currently in field trials.