

## ***Venturia inaequalis* hazai izolátumainak molekuláris markeranalízise**

PAPP DÁVID, GRANIT SELIMAJ

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Kertészettudományi Intézet,  
Gyümölcsstermesztési Tanszék

E-mail: papp.david@uni-mate.hu

### **Összefoglaló**

Az alma legjelentősebb gombás betegsége a ventúriás varasodás (kórokozója: *Venturia inaequalis*). A betegség elleni védekezés egyik lehetősége varasodásrezisztens almafajták termesztése (melyek többségükben az *Rvi6* rezisztenciagént hordozzák), azonban ezek hatékonysága kérdésessé vált a kórokozó új virulenciával rendelkező rasszainak feltűnésével, illetve térnyerésével. E gazdaságilag jelentős folyamatok megértésének céljából szükséges a kórokozó populációgenetikájának vizsgálata. Jelen kutatás célja hazai *V. inaequalis* izolátumok genetikai változatosságának vizsgálata volt.

A kutatás alkalmával 21 *V. inaequalis* izolátumot vizsgáltunk. Az izolátumok négy különböző településről származtak tíz különböző almafajtaról, köztük három izolátum az *Rvi6* rezisztens 'Remo' fajtaról. A vizsgálat alkalmával nyolc mikroszatellit markert alkalmaztunk, melyek közül 6 mutatott nagy variabilitást ( $h=0,76-0,882$ ). Eredményeink alapján a különböző földrajzi helyekről származó minták közt jelentős a génáramlás mértéke. A teljes variancia nagyobb része (69%) populációkon belül volt megfigyelhető, csak kisebb rész (31%) oszlott meg a minták földrajzi származása szerinti populációk közt. A budai arborétumi *Malus x purpurea*-ról származó minták elkülönültek a többi mintától mely jelenség magyarázatában a különböző gazdanövény hatásának is szerepe lehet. A korábbi kutatásokkal ellentétben a markerek nem mutatták az *Rvi6* virulens és nem virulens populációk különbözőségét.

**Kulcsszavak:** varasodás, SSR, Vf

### **Bevezetés**

A *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter egy heterotallikus aszkuszos gomba, az alma legjelentősebb gombás betegségének a ventúriás varasodásnak a kórokozója. A gomba pszeudotéciuma telet át az őszel lehullott levelekben. Így a betegség elleni védekezés egyik lehetősége a pszeudotéciumok kialakulásának megakadályozása, illetve a primer fertőző forrás megszüntetése (lehullott levelek megsemmisítése, vagy lombhulláskor történő lombfertőtlenítés). Ezt követően az aszkospórák kiszóródásakor, majd a

konídiumok fertőzésének megakadályozása céljából is rendszerint permetezni kell (Glits és Folk 2000). A környezeti tényezők függvényében akár évi 15-22 alkalommal is szükséges lehet permetezni (Holb et al. 2005). A védekezés alternatív lehetőségét jelentik a varasodásrezisztens almafajták, melyekkel a fungicid kezelések száma minimalizálható. Ennek következtében e fajták kiemelt jelentőséggel bírnak az ökológiai gyümölcstermesztés számára. A varasodásrezisztens almafajták hazánkban különösen népszerűek, a KSH 2017-es adatai szerint a 'Remo', 'Florina' és 'Relinda' rezisztens fajták a teljes alma termésmennyiség közel 14%-át teszik ki (KSH 2017).

A rezisztens fajtákkal történő védekezés hatékonyságát azonban nagyban hátráltatja, a kórokozó új virulenciával rendelkező rasszainak feltűnése illetve terjedése, mely végső soron a korábban ellenálló fajták megbetegedését eredményezi. A folyamat során jellemzően a gazda rasszspecifikus fő rezisztenciagénje elveszíti hatását, amint a fő rezisztenciagénnel a fertőzés szempontjából szoros összefüggésben álló avirulencia gén módosul a kórokozóban (Jones és Dangl 2006). A kereskedelmi forgalomban lévő rezisztens fajták döntő többsége (egyebek becslések szerint több mint 90%-a) a *Malus floribunda* Sieb. ex Van Houtte 821-es szelekciójától származó *Rvi6* (régiben *Vf*) fő rezisztenciagént hordozza (Brown és Maloney 2013). A világon először Németországból jelentették *Rvi6* rezisztens fajta fertőződését, 1993-ban (Parisi et al. 1993). Magyarországon *Rvi6* rezisztens fajta fertőződéséről elsőként Holb (2007) tett említést. Bár az első generációs *Rvi6* rezisztens fajták kifejlesztéséért felelős amerikai nemesítők szerint gyenge tüneteket már egészen korán megfigyeltek a rezisztens 'Prima' fajtán, de ebből nem következtettek arra, hogy a kórokozó áttörte volna a rezisztenciát (Crosby et al. 1992). Az amerikai kontinensen a rezisztencia áttöréséről csak sokkal később érkezett tudósítás (Beckerman et al. 2009, Papp et al. 2020).

A *V. inaequalis* éves életciklusa egy ivaros és számos ivartalan ciklusból tevődik össze, ami a populációk nagyfokú sokszínűségét vonja maga után. A *V. inaequalis* populációk változatossága szoros összefüggésben áll azok rezisztens fajtákhoz történő alkalmazkodóképességével, és így a helyes védekezési stratégia megválasztásával. A téma nagy gazdasági jelentősége miatt számos kutatás célozza a világ különböző régióiban megtalálható *V. inaequalis* populációk változékonyságának felmérését és evolúciobiológiai folyamatainak megértését (Guérin és Le Cam 2004; Guérin et al. 2004; Guérin et al. 2007; Ebrahimi et al. 2016; Kaymak et al. 2016; Lemaire et al. 2016; Passey et al. 2016; Michalecka et al. 2018; Sitther et al. 2018; Mansoor et al. 2019)

Egyes populációgenetikai vizsgálatok során a *V. inaequalis* izolátumok genetikai diverzitása nem állt szoros összefüggésben az izolátumok földrajzi származásával, illetve azzal, hogy mely fajtáról gyűjtötték az izolátumot (Kaymak et al. 2016; Sitther et al. 2018). A szokatlan eredményt a kutatók a különböző fajtákon illetve földrajzi helyeken található populációk közti nagymértékű génáramlással magyarázták. A források szerint a populációk közti génáramlásban az emberi hatás is számottevő lehet, mely folytán a kórokozó könnyebben tesz meg nagyobb távolságokat. Ugyanakkor más tanulmányok differenciálódást mutattak ki az *Rvi6* virulencia illetve avirulencia függvényében, tehát azzal kapcsolatban, hogy az izolátumok *Rvi6* rezisztens fajtáról származtak-e vagy sem. Ezen populációgenetikai vizsgálatok szerint az *Rvi6* virulens *V. inaequalis* rassz nem egy friss mutáció eredményeként jött létre, hanem az több ezer éve létezett vadalma állományokban, anélkül, hogy keveredett volna a nemes almán betegséget okozó populációval (Guérin és Le Cam 2004; Guérin et al. 2004; Guérin et al. 2007; Lemaire et al. 2016; Michalecka et al. 2018). A legújabb eredmények alapján a virulens rassz európai terjedése azonban utat nyithatott a két vonal közti kereszteződésnek, különösen olyan

ültetvényekben, ahol a rezisztens és nem rezisztens fajták együtt is megtalálhatóak (Michalecka et al. 2018). Ez a virulens rassz agresszivitásának növekedését vonhatja maga után.

Jelen kutatás célja a hazai *V. inaequalis* populáció genetikai sokféleségének vizsgálata volt, SSR (mikroszatellit) marker analízis útján. Amellett, hogy az alkalmazott markerekről is információt kaptunk, genetikai alapon hasonlítottuk össze a hazai *Rvi6* virulens és nem virulens izolátumokat.

### Anyag és módszer

#### *Venturia inaequalis* izolátumok előállítása

Varas almalevél mintákat gyűjtöttünk monospóras izolátumok előállítása céljából 2017-től 2020-ig (1. táblázat). A fertőzött leveleket papírzacskóban szállítottuk, majd 4°C-on tartottuk az izolálásig.

1. táblázat. A vizsgált izolátumok és jellemzőik

Izolátum	Gazdanövény	Gyűjtés helye	Gyűjtés időpontja (év, hónap)
190	Golden Delicious	Júlia major (Borzavár)	1987.07.
001	Gala	Soroksár (Budapest)	2017.06.
002	Gala	Soroksár (Budapest)	2017.06.
003	<i>Malus x purpurea</i>	Budai Arborétum (Budapest)	2017.07.
004	<i>Malus x purpurea</i>	Budai Arborétum (Budapest)	2017.07.
005	Angold	Soroksár (Budapest)	2017.06.
006	OR45T132	Soroksár (Budapest)	2017.07.
007	Gala	Soroksár (Budapest)	2018.05.
008	Gala	Soroksár (Budapest)	2018.05.
009	Golden spur	Soroksár (Budapest)	2017.06.
010	Golden Delicious	Soroksár (Budapest)	2018.05.
011	Golden Delicious	Soroksár (Budapest)	2018.05.
012	Golden Delicious	Soroksár (Budapest)	2018.05.
013	Golden Delicious	Soroksár (Budapest)	2018.05.
014	Geneva	Soroksár (Budapest)	2018.06.
015	Remo	Csenger	2018.07.
016	Remo	Csenger	2018.07.
017	Remo	Csenger	2018.07.
018	Idared	Csenger	2018.07.
019	Idared	Csenger	2018.07.
020	Jonagold	Csenger	2018.07.

Table 1. The investigated isolates and their characteristics

### DNS izolálás, PCR amplifikáció és gélelektroforézis

Burgonyadextróz agarral vagy víz agarral kiöntött Petri-csészék felső oldalára ragasztottuk a levelekből kivágott léziókat majd a lezárt Petri-csészéket egy napig inkubáltuk (Papp et al. 2020). Steril fülkében mikroszkóp alatt történt a csírázó konídiumok izolálása egy tűhegy segítségével. Az új burgonyadextróz agarra helyezett konídiumokat legalább négy hétig inkubáltuk 20°C-on állandó megvilágítás alatt. Hosszú távú tárolás esetén a tenyészeteket paraffinolaj alá helyeztük és 4°C-on tartottuk. Összesen 20, három különböző helyszínről származó izolátumot állítottunk elő a különböző almafajták leveleiről illetve a Borzavárról származó 190-es izolátumot Hevesi Mária bocsájtotta a rendelkezésünkre, tehát összesen 21 izolátumot vizsgáltunk 4 különböző gyűjtési helyről (1. táblázat).

Az izolátumok DNS-ének kivonásához a tenyészetekből 0,5 cm<sup>2</sup> felületű darabokat vágunk ki. Ezeket az agartól megtisztítottuk, majd folyékony nitrogén alatt egy mozsárban eldörzsöltük. Az így előkészített mintákból az E.Z.N.A.® plant DNA kit (Nocross, USA) segítségével kivontuk a DNS-t az útmutató előírásai szerint.

A DNS szakaszok felszaporítását Thermal Cycler 2720 PCR-készülékkel (Applied Biosystems, Foster City, USA) hajtottuk végre. A PCR mix végtérfogata 16 µl volt és a mix összeállításához DreamTaq™ Green PCR Master Mix-et (Fermentas, Waltham, USA) használtunk. Az SSR allélok felszaporítása céljából nyolc különböző primer párt alkalmaztunk (2. táblázat). Az SSR primerek fluoreszcens festékekkel (FAM) voltak jelölve. A PCR program beállítása Guérin et al. (2004) alapján történt a 2. táblázatban részletezett olvadási hőmérsékletek figyelembevételével.

#### 2. táblázat. A kutatás során alkalmazott SSR markerek

Marker	Olvadási hőmérséklet (°C)	Forward primer szekvencia	Reverse primer szekvencia	Referencia
1tc1a	62	TCGAGATCCTC AAACTTCCTT	TCGAGATCCT CAAACCTTCCTT	Tenzer, 1999
1tc1b	62	CGATTGGGGATA TGAAGACTT	CGATTGGGGAT ATGAAGACTT	Tenzer, 1999
1tc1g	62	TCACTCAACAA TACAGTTTCTTACG	TTTCACGGTAG CGATAGGAG	Tenzer, 1999
1aac3b	62	AGCGCTAGGTC GTGAAATC	TTTCTGAAGTGT GTGGGACAT	Tenzer, 1999
Vitg11/70	60	GAAGAGTTGG AGTGGTTG	GAACCGAATCT GTACAGGAC	Guerin et al.2004
Vicag8/42	60	TGTCAGCCACG CTAGAAG	CACCGGAC GAATCATGC	Guerin et al.2004
Vica10/154	60	CCTCCTTCCTAT TACTCTCG	CTGAAGCGAAC CTATGTCC	Guerin et al.2004
M42	60	CCAGACCTCCT TATTCACG	CATGCCGTCTT CAGGAGTTA	Guerin et al.2004

Table 2. SSR markers used in the study

Az SSR fragmensek méretének meghatározása gélelektroforézissel történt. A mintákat 2,5-től 4%-os SFR (szuper nagy felbontású) agaróz gélen (Amresco, Solon, USA) futattuk különböző beállítások mellett akár négy órán keresztül TAE (Trisz-ecetsav-EDTA) vagy TBE (Trisz-borát-EDTA) puffert alkalmazva. A gélhez 10 µl GR Safe (Lab Supply Mall, Innovita Inc., Gaithersburg, USA) nukleinsav festéket adtunk. A fragmenshossz meghatározásához 50 bp felosztású DNS létrát (Invitrogen, Carlsbad, USA) használtunk. A gélképeket UVP (Cambridge, UK) gél dokumentációs rendszerrel készítettük.

### Statisztikai értékelés

A GenAlEx 6.5 Excel applikáció segítségével kiszámítottuk a markerekre vonatkozó populációgenetikai mutatókat (lókuszonkénti allélszámot és a haploid géndiverzitás mutatóját), molekuláris variancia analízist (AMOVA) és fő koordináta analízist (PCoA) végeztünk (Peakall és Smouse 2006, 2012). A fő koordináta analízis eredményét R-ben a ggplot funkció segítségével vizualizáltuk.

### Eredmények és megvitatásuk

A 21 *V. inaequalis* izolátum 8 SSR markerrel történő vizsgálata során az egyes lókuszokon tapasztalt diverzitást az allélok számával és a haploid géndiverzitással jellemeztük (3. táblázat). Három marker esetében több mintánál sem kaptunk PCR terméket. Ezt hiányzó adatként kezeltük, ami esetenként alacsonyabb mintaszámot eredményezett. A haploid géndiverzitás 0-tól 0,882-ig változott. A nyolc molekuláris markerből hat mutatott nagyfokú variabilitást. Ezen markerek magas géndiverzitása megfelel más kutatások eredményeinek (Tenzer et al. 1999; Guérin et al. 2004; Koopman et al. 2017). Az 1aac3b csupán egyetlen allélt szaporított fel, így géndiverzitása 0-nak tekinthető. Tenzer et al. (1999) más markerekhez képest szintén alacsonyabb allélszámot tapasztalt az 1aac3b marker esetében; egy másik munka során azonban a marker relatív nagy variabilitást mutatott (Mansoor et al. 2019). Annak ellenére, hogy esetünkben csupán 0,32 volt a géndiverzitása, a Vitg11/70 markernél korábban 0,835-ös géndiverzitást is megfigyeltek (Guérin et al. 2004).

#### 3. táblázat. Diverzitási mutatók összegzése minden lókuszon

	1tc1a	1tc1b	1tc1g	1aac3b	Vitg11/70	Vicacg8/42	Vica10/154	M42
<b>N</b>	18	21	21	21	20	21	16	20
<b>Na</b>	10	8	9	1	2	9	11	7
<b>h</b>	0,802	0,789	0,77	0	0,32	0,811	0,882	0,76

N - mintaszám, Na - allélszám, h - haploid géndiverzitás

N - number of samples, Na - number of alleles, h - haploid gene diversity

Table 3. Summary of the diversity indices for all loci

A molekuláris varianciaanalízis (n=999 permutáció) eredménye szerint a teljes variancia nagyobb része (69%) populációkon belül volt megfigyelhető, csak kisebb rész (31%) oszlott meg a minták

földrajzi származása szerinti populációk közt ( $\Phi_{PT}=0,306$ ;  $p<0,01$ ). Ezen eredmény jelentős génáramlást feltételez a populációk közt, azok kevésbé tekinthetők izoláltak. Más szerzők még kisebb fokú differenciálódást tapasztaltak a földrajzi származás függvényében, csupán a variabilitás 7%-a volt a populációk közt megfigyelhető iráni és dél-afrikai kutatások szerint (Ebrahimi et al. 2016; Koopman et al. 2017). Ugyanakkor Izrael partvidékén genetikailag teljesen egyöntetű állományokról is beszámoltak, mely valószínűleg a kórokozó áttelelő konidiumaiból történő klonális szaporodásának eredménye (Boehm et al. 2003).

A fő koordináta analízis alapján a csengeri izolátumok gyengén elkülönülnek a soroksári mintáktól, azonban az *Rvi6* rezisztens 'Remo' fajtáról származó minták a többséget jelentő soroksári mintákkal csoportosulnak, nem alkotnak külön csoportot (1. ábra). A Budai Arborétumból a *Malus x purpurea* (Barber) Rehder díszalmáról származó izolátumok szintén nagy genetikai távolságra vannak a más fajtáról, illetve más helyszínről származó izolátumok többségétől. Ennek részben ellentmondanak azon kutatások, melyek szerint sem a gazda (különböző almafajták vagy -fajok, melyekről az izolátumokat nyerték) sem az izolátumok földrajzi származása nem mutat összefüggést a genetikai változatossággal (Kaymak et al. 2016; Sitther et al. 2018).

1. ábra. Fő koordináta analízis eredménye nyolc SSR marker alapján. Az 1. koordináta az eltérés 56,29%-át a 2. koordináta az eltérés 29,44%-át magyarázza. A különböző alakú pontok különböző származási helyet jelölnek.

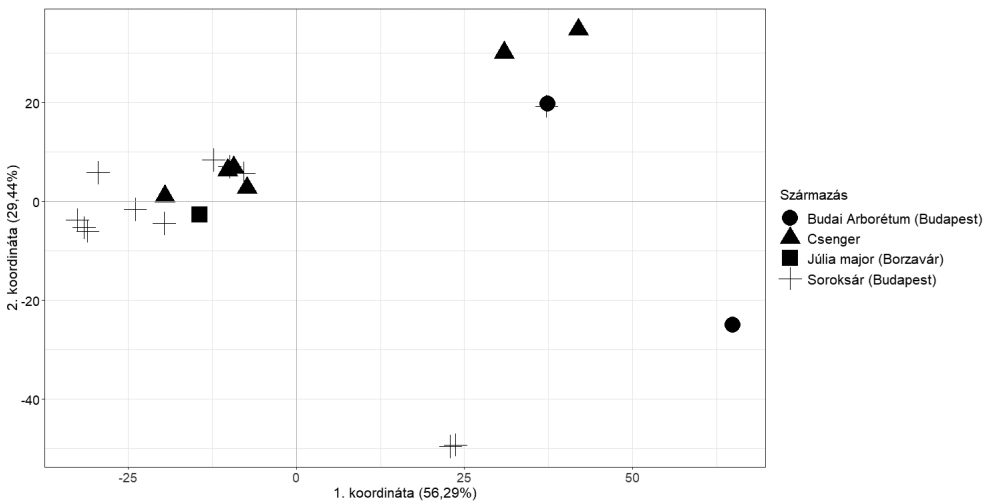


Figure 1. Result of the principal coordinate analyses based on eight SSR markers. The first and second coordinate explains 56,29% and 29,44% of the variation, respectively. Points of different shapes indicate different locations of origin.

## Következtetések

Első alkalommal vizsgáltuk hazai *V. inaequalis* izolátumok (n=21) genetikai sokféleségét, és a nemzetközi adatokkal összhangban az izolátumok nagy változatosságát tapasztaltuk. Az alkalmazott SSR-markerekről szerzett információk alapján, amellett, hogy két markernél (1aac3b, Vitg11/70) jelen esetben alacsony géndiverzitást tapasztaltunk, mind a nyolc marker alkalmazása indokolt lehet a további kutatások alkalmával.

Bár a vizsgált *V. inaequalis* izolátumok alapján a különböző gyűjtési helyek (Soroksár, Budai arborétum, Csenger) populációi nem tekinthetők izoláltak, a nemzetközi munkákhoz képest nagyobb genetikai differenciálódást tapasztaltunk. A budai arborétumi *Malus x purpurea*-ról származó minták elkülönülésében a gazda hatásának is szerepe lehet. Ugyanakkor a Csengerről származó *Rvi6* virulens törzsek nem különültek el a nem virulens Soroksári mintáktól, annak ellenére, hogy a két település több száz kilométerre található egymástól.

Az, hogy a korábbi nemzetközi kutatásokkal ellentétben (Lemaire et al. 2016; Michalecka et al. 2018) nem tapasztaltuk az *Rvi6* virulens és nem virulens izolátumok genetikai különbségét akár arra is utalhat, hogy a vonalak közt hibridizáció történt. Ez komoly kockázati tényezőt jelent az almatermesztés számára, hiszen a rezisztens fajták hatékonyságának további erodálódását jelentheti. A folyamatok pontos megismeréséhez azonban lényegesen nagyobb mennyiségű minta vizsgálatára volna szükség.

## Köszönetnyilvánítás

A kutatás az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-20-4-II kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.

## Irodalomjegyzék

1. Glits M. és Folk Gy. 2000. Kertészeti növénykórtan. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
2. Beckerman, J., Chatfield, J. and Draper, E. 2009. A 33-year evaluation of resistance and pathogenicity in the apple scab–crabapples pathosystem. *HortScience*, 44(3): 599-608.
3. Boehm, E.W., Freeman, S., Shabi, E. and Michailides, T.J. 2003. Microsatellite primers indicate the presence of asexual populations of *Venturia inaequalis* in coastal Israeli apple orchards. *Phytoparasitica*, 31(3): 236-251.
4. Brown, S.K. and Maloney, K.E. 2013. An update on apple cultivars, brands and club-marketing. *NYFQ*, 21(1): 3-10.
5. Crosby, J.A., Janick, J., Pecknold, P.C., Korban, S.S., O'Connor, P.A., Ries, S.M., Goffreda, J. and Voordeckers, A. 1992. Breeding apples for scab resistance: 1945-1990. *Acta Hort.* 317: 43-70.
6. Ebrahimi, L., Fotuhifar, K.B., Javan Nikkhah, M., Naghavi, M.R. and Baisakh, N. 2016. Population genetic structure of apple scab (*Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter) in Iran. *PLOS ONE*. 11(9): e0160737.
7. Guérin, F. and Le Cam, B. 2004. Breakdown of the scab resistance gene *Vf* in apple leads to a founder effect in populations of the fungal pathogen *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*, 94(4): 364-369.
8. Guérin, F., Franck, P., Loiseau, A., Devaux, M. and Le Cam, B. 2004. Isolation of 21 new polymorphic

- microsatellite loci in the phytopathogenic fungus *Venturia inaequalis*. Mol. Ecol. Notes. 4(2): 268-270.
9. Guérin, F., Gladieux, P. and Le Cam, B. 2007. Origin and colonization history of newly virulent strains of the phytopathogenic fungus *Venturia inaequalis*. Fungal Genet. Biol. 44(4): 284-292.
  10. Holb, I.J. 2007. Classification of apple cultivar reactions to scab in integrated and organic production systems. Can. J. Plant Pathol. 29(3): 251-260.
  11. Holb, I.J., Heijne, B., Withagen, J.C.M., Gáll, J.M. and Jeger, M.J. 2005. Analysis of summer epidemic progress of apple scab at different apple production systems in the Netherlands and Hungary. Phytopathology, 95: 1001-1020.
  12. Jones, J.D. and Dangl, J.L. 2006. The plant immune system. Nature, 444(7117): 323-329.
  13. Kaymak, S., Boyraz, N. and Daniels, J. 2016. Molecular markers to evaluate genetic diversity among *Venturia inaequalis* isolates obtained from apple plantations in Isparta Province. Turk. J. Agric. For. 40(4): 489-498.
  14. Koopman, T.A., Meitz-Hopkins, J.C., Bester-van der Merwe, A.E., Tobutt, K.R., Bester, C. and Lennox, C.L. 2017. Genetic diversity and gene flow of four South African *Venturia inaequalis* (apple scab) populations. Phytopathology, 107(4): 455-462.
  15. KSH 2017. ([http://www.ksh.hu/elemzesek/gyumolcs2017\\_elozetes/index.html](http://www.ksh.hu/elemzesek/gyumolcs2017_elozetes/index.html))
  16. Lemaire, C., De Gracia, M., Leroy, T., Michalecka, M., Lindhard-Pedersen, H., Guerin, F., Gladieux, P. and Le Cam, B. 2016. Emergence of new virulent populations of apple scab from nonagricultural disease reservoirs. New Phytol. 209(3): 1220-1229.
  17. Mansoor, S., Ahmed, N., Sharma, V., Jan, S., Nabi, S.U., Mir, J.I., Mir, M.A. and Masoodi, K.Z. 2019. Elucidating genetic variability and population structure in *Venturia inaequalis* associated with apple scab disease using SSR markers. PLOS ONE. 14(11): e0224300.
  18. Michalecka, M., Masny, S., Leroy, T. and Puławska, J. 2018. Population structure of *Venturia inaequalis*, a causal agent of apple scab, in response to heterogeneous apple tree cultivation. BMC evol. biol. 18(1): 5.
  19. Papp, D., Singh, J., Gadoury, D. and Khan, A. 2020. New North American isolates of *Venturia inaequalis* can overcome apple scab resistance of *Malus floribunda* 821. Plant Dis. 104(3): 649-655.
  20. Parisi, L., Lespinasse, Y., Guillaumes, J. and Krüger, J. 1993. A new race of *Venturia inaequalis* virulent to apples with resistance due to the *Vf* gene. Phytopathology, 83(5): 533-537.
  21. Passey, T.A.J., Shaw, M.W. and Xu, X.M. 2016. Differentiation in populations of the apple scab fungus *Venturia inaequalis* on cultivars in a mixed orchard remain over time. Plant Pathol. 65(7): 1133-1141.
  22. Peakall, R. and Smouse, P.E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Mol. Ecol. Notes. 6(1): 288-295.
  23. Peakall, R. and Smouse, P.E. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. Bioinformatics, 28: 2537-2539.
  24. Sither, V., Garrido Haro, P.A., Molineros, J.E., Garzon, C.D. and Jiménez-Gasco, M.M. 2018. Genetic diversity of apple- and crabapple-infecting isolates of *Venturia inaequalis* in Pennsylvania, the United States, determined by microsatellite markers. For. Pathol. 48(2): e12405.
  25. Tenzer, I., Degli Ivanisovich, S., Morgante, M. and Gessler, C. 1999. Identification of microsatellite markers and their application to population genetics of *Venturia inaequalis*. Phytopathology, 89(9): 748-753.



## Molecular marker analyses of *Venturia inaequalis* isolates from Hungary

PAPP, D., SELIMAJ, G.

Hungarian University of Agriculture and Life Sciences,  
Institute of Horticultural Sciences, Department of Fruit Growing

E-mail: papp.david@kertk.szie.hu

### Summary

Apple scab is the most important fungal disease of apples (causal agent: *Venturia inaequalis*). One way to control the disease is to grow scab resistant apple cultivars (most of which carry the *Rvi6* resistance gene), but the efficacy of these became questionable with the occurrence and emergence of new virulent races of the pathogen. To understand these economically important processes, it is necessary to study the population genetics of the pathogen. The aim of this study was to assess the genetic diversity of Hungarian *V. inaequalis* isolates.

We investigated 21 *V. inaequalis* isolates. The isolates are originating from four different locations and ten different apple cultivars. Three isolates were isolated from the *Rvi6* resistant 'Remo' cultivar. We used eight microsatellite markers of which six were highly variable ( $h = 0.76-0.882$ ). Based on our data there is significant gene flow between the populations from different geographical regions. The majority of the variation resided within population (69%), only a smaller amount was present between the populations from different geographic origins (31%). The samples originating from the Buda Arboretum from the *Malus x purpurea* host were separated from the rest of the samples, which might be explained by the effect of the differing host plant. In contrast to previous research works, the markers could not differentiate the *Rvi6* virulent and non-virulent populations.

**Keywords:** Scab, SSR, Vf

### Szerzők:

Papp Dávid (kapcsolattartó szerző) – PhD, egyetemi tanársegéd, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Kertészettudományi Intézet, Gyümölcstermesztési Tanszék, 1118 Budapest, Villányi út. 29-43.

Granit Selimaj – PhD hallgató, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Kertészettudományi Intézet, Gyümölcstermesztési Tanszék, 1118 Budapest, Villányi út. 29-43.