

SZAKDOLGOZAT

SZABÓ CSILLA

2024



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Szent István Campus
Genetika és Biotechnológia Intézet
Növénygenetika és növénynemesítés szakirányú
továbbképzési szak

TÁROLÁSI KÓROKOZÓK HATÁSA AZ ANTOCIÁNOS ÉS
ANTOCIÁNMENTES PAPRIKA NEMESÍTÉSI VONALAKRA

Belső konzulens: Dr. Kovács Zsófia
Egyetemi adjunktus

Készítette: Szabó Csilla

Gödöllő

2024

Tartalomjegyzék

1.	Bevezetés és célkitűzések.....	3
2.	Irodalmi áttekintés.....	5
2.1.	A paprika jelentősége	5
2.2.	A paprika nemesítés céljai.....	5
2.3.	A paprika érése	6
2.4.	A paprika beltartalmi értékei	7
2.5.	A paprika tárolása.....	8
2.5.1.	A tárolás során jelentkező problémák	10
2.5.2.	A paprika tárolási kórokozói	10
2.6.	A paprika színanyagai	13
2.6.1.	Az antociánok jelentősége.....	14
3.	Anyag és módszer	17
3.1.	A kísérletekhez felhasznált növényi anyag	17
3.2.	A kórokozók izolálása, tiszta tenyészetek készítése, törzsfenntartás	18
3.3.	A DNS kivonás protokollja	18
3.4.	A PCR protokollja	19
3.5.	A PCR termékek elválasztása agaróz gélelektroforézissel.....	21
3.6.	A gélből kivágás és visszatisztítás protokollja	22
3.7.	Táptalaj készítés paprikakivonattal és beoltás	23
3.8.	Értékelés	23
4.	Eredmények és értékelésük	24
4.1.	Tiszta tenyészetek létrehozása.....	24
4.2.	Patogének azonosítása.....	28
4.3.	Botritisz növekedési ütemének vizsgálata.....	30
5.	Következtetések, javaslatok	35

6.	Összefoglalás.....	37
7.	Irodalomjegyzék.....	39
8.	Ábrák és táblázatok jegyzéke	45
9.	Mellékletek.....	47

1. Bevezetés és célkitűzések

A paprika a magyar konyha egyik alapvető zöldségnövénye, egyik legnagyobb mennyiségben termelt zöldségfajunk. Vitamin és ásványianyag tartalmának köszönhetően helye van az egészséges táplálkozásban is. Változatos szín- és formavilággal rendelkezik. A világ különböző régióinak paprikafogyasztása rendkívül eltérő, ez a mennyiségre és a választott fajtatípusra is igaz. Hazánkban legnagyobb mennyiségben továbbra is a hagyományosnak mondható TV paprikát fogyasztják, de a pirosra érő kaliforniai és kápia típusok iránti igény is folyamatosan emelkedik. A hazai egy főre jutó éves zöldpaprika fogyasztás 2020-ban 5,5kg volt (<http1>).

Egyre nagyobb a fogyasztói elvárás a friss fogyasztásra kerülő zöldségek és gyümölcsök minősége iránt. Ez jelenti a szemmel látható külső tulajdonságokat, mint például a szín, forma, fényes héj, sérülésmentesség, egészséges megjelenés, és a belső tulajdonságokat, úgy, mint íz, illat, beltartalmi jellemzők. Ezenkívül elvárás, hogy minél kevesebb növényvédőszer maradékot tartalmazzon, esetleg biotermék legyen, és az élelmiszer pazarlás csökkentése miatt lényeges, hogy a vásárlástól számítva meddig fogyasztható el minőségromlás nélkül a termék.

Egy jó fajta megválasztása nagymértékben meghatározza az intenzív paprikatermesztés sikerességét. A termesztési költségek és vásárlói igények növekedése nem csak a termelőket, hanem a nemesítőket is kihívás elé állítja. Az újabb paprikafajták szinte mindegyike tartalmaz vad *Capsicum*-fajokból származó rezisztenciagént, vagy akár több kórokozó ellen is védelmet nyújtó rezisztenciagén-csomagot. A növekvő műtrágya árak, az emelkedő bérköltségek, az ezekkel párhuzamosan nem emelkedő értékesítési árak, az egyre szűkülő alkalmazható növényvédőszer paletta és a minőség iránti igény indukálta az egyre nagyobb termésmennyiség elérését és a veszteségek minimalizálását, a gazdaságos termelés megőrzése érdekében.

A kész paprika előállításával még nem fejeződik be a folyamat, a betakarítás utáni úgynevezett post harvest műveletek legalább ugyanilyen fontosak, mivel a betakarítás utáni veszteségek akár elérhetik a 30-40%-ot is, ezért erre még több figyelmet kellene fordítani. A paprika nem tartozik a jól tárolható termények közé. A magas víztartalma és a termés jellegzetes szerkezete miatt gyors minőségvesztésre hajlamos, ami rövid eltarthatóságot eredményez. Egy fajta eltarthatóságát befolyásolja a termesztéstechnológia, a típus, a héjvastagság, a szedéskori érettségi állapot (gazdasági- vagy biológiai érettség), a tárolás körülményei. A tárolás során fellépő leggyakoribb problémák a vízvesztés, fonnyadás és a mikrobiológiai romlás.

A pultontarthatóság kereskedelmi szempontból fontos fogalom, azt az időtartamot jelenti, amit a késztermék el tud tölteni a boltok polcain minőségromlás nélkül. Minden módszer, ami növelni tudja a tárolhatóságot, illetve a pultontarthatóság idejét, csökkenti a veszteségeket. Paradicsom estében vizsgálták, hogy a termékek antocián tartalma hogyan befolyásolja a pultontarthatóságot. Bebizonyították, hogy az antociánok jelenléte növeli ezt az időtartamot, mivel lassítja a túlérési folyamatokat, és a *Botrytis cinerea* fertőzéssel szemben is biztosít bizonyos fokú ellenállást, ami az egyik legjelentősebb tárolási kórokozó.

Paprikával kapcsolatosan kevés ilyen irányú kutatási eredmény áll rendelkezésre, pedig egyre több antociános fajta jelenik meg kereskedelmi forgalomban. Szakdolgozatomban vizsgálom a pultontarthatóságát liluló és nem liluló paprika nemesítési vonalaknak, és ezzel együtt in vitro antimikrobiális hatásukat, illetve ellenállóságukat a tárolási kórokozókkal szemben.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A paprika jelentősége

A paradicsom és a paprika két fontos Solanaceae családba tartozó zöldségnövény, amelyek hasonló származási területtel rendelkeznek, és nemesítésük története, amely szinte párhuzamosan zajlott, sok hasonlóságot mutat (Paran és Knaap, 2007). A paprika géncentruma, azaz őshazája Közép- és Dél-Amerika trópusi vidékein található (De Candolle, 1894).

Az étkezési paprika egész évben fontos szerepet tölt be a magyar táplálkozásban, friss vagy feldolgozott formában. Kedvező étrendi hatásának és intenzív ízének köszönhetően folyamatos fogyasztói igény van rá (Zatykó, 1994). Termesztésben leggyakrabban előforduló típusok a tölteni való, a hegyes erős, a kaliforniai, a kápia, a paradicsom alakú és az almapaprika. A beltartalmuk igen változatos, vitaminokban, ásványi anyagokban, nyomelemekben rendkívül gazdag, könnyen emészthető zöldségféle (Lantos, 2018).

A paprikát egyre nagyobb arányban hajtatott körülmények között termesztik, a szántóföldi termőterület folyamatosan csökken, ez egész Európára jellemző tendencia. A hajtatás előnye a jobb minőség, többszörös termésátlag, folyamatosabb termés és a nagyobb termésbiztonság. Európa paprikafogyasztása fokozatosan emelkedik, de míg a piacon egyre többféle fajtatípus jelenik meg változatos színben és formában, addig hazánkban még mindig a fehér tölteni való típus a legkedveltebb (Zatykó, 2000).

2.2. A paprika nemesítés céljai

Paprikánál más az elsődleges nemesítési cél attól függően, hogy hajtatott- vagy szabadföldi körülményekről beszélünk, illetve eltér a fűszerpaprika termesztés esetében is. A koraiság, hosszú megújuló képesség, multirezisztencia, magas és kiegyenlített hozam, stressztűrés és kiváló minőség azok a tulajdonságok, amelyek a hajtatásban használt fajtákkal szemben támasztott legfontosabb nemesítési igények. Szántóföldi termesztésnél elvárás az erős növekedési erély rövid ízközzel párosulva, jó hozam, jól takaró lombfelület, rezisztencia. Ipari feldolgozás esetében a magas beltartalmi érték a feldolgozók részéről elvárt legfontosabb tulajdonság. Fűszerpaprikánál pedig fontos a magas szárazanyag tartalom és az egyszerre érés (Ledóné, 2020).

A '60-as '70-es években inkább a termesztés-technológia határozta meg a nemesítés irányát. Az utóbbi években nagy hangsúlyt fektettek a fajták betegségekkal szembeni ellenállóképességének növelésére a nemesítés során. A hajtásban károkat okozó TMV (dohány mozaik vírus), a TSWV (paradicsom bronzfoltosság vírus), és a szabadföldi termesztést veszélyeztető CMV (uborka mozaik vírus) és baktériumos levélfoltosság (*Xanthomonas campestris*) elleni rezisztencia fontos része volt a nemesítési programnak. A fő cél az intenzív termesztés-technológiába illeszthető, nagy terméseredményt biztosító hibrid fajták nemesítése volt. Rengeteg új vírus, betegség jelenik meg a termesztésben, ezért a fajták ellenállóságának növelése ma is elsődleges cél, a gazdaságosság megtartása, illetve növelése mellett. Furcsa módon az ízek fejlesztése háttérbe szorult a zöldség-nemesítésben (Hajtun, 2018).

A fajta sikerességét meghatározza a termés mennyiségén túl a minősége is, ami jelenti a formát, méretet, színt, keménységet, amely a pulton tarthatóságot is meghatározza. Korai vagy késői termesztési időszakban előtérbe kerül az antociánosodásra való hajlam, nyáron a napégésre való érzékenység, vagy kápia paprikánál a mikrorepedések előfordulása (Kerek, 2018).

2.3. A paprika érése

A paprika termése felfűjt bogyó, üreges belső résszel. Az étkezési paprikát leginkább fogyasztási, illetve gazdasági érettségben szedik. Ekkor a termés már elérte a fajtára jellemző méretet, a héj felülete fényes, sima. Teljes vagy biológiai érettségénél már a magok is beértek, a termésfal színe a fajtára jellemzően leggyakrabban pirosra, sárgára, narancs színűre változik. Ilyen típusok például a paradicsom alakú paprika vagy a kápia, ezeknél a fogyasztási érettség egybeesik a biológiai érettséggel. A színyanyagok a paprikabogyó termésfalában találhatóak meg, a biológiai érettség állapotában fordulnak elő a legnagyobb mennyiségben. A héj, amely nem tartalmaz színyanyagot, a bogyó teljes méreténél a legvastagabb, de a biológiai érettség eléréséig folyamatosan csökken a vastagsága. Vastagabb héj szabadföldön alakul ki, szemben a hajtatással (Somos, 1981).

Betakarítás után a paprika termése utóérik, ennek folyamatát meghatározza a szedéskori érettségi állapot és a tárolási körülmény. Az utóérés jelenségét nem kíséri nagyfokú légzésintenzitás változás, csak lassan csökkenve változik. A szedésre, illetve a fogyasztásra

érett állapot meghatározása is fajtafüggő, a termelők is tapasztalati úton állapítják meg (Zsom, 2007). A paprika érése során a teljes cukor koncentráció és a szárazanyag tartalom emelkedik, ez okozza a piros bogyó édességét (Luning et al., 1994). Mivel a paprika utóérő termés, az érési folyamatok a betakarítás után tovább folytatódnak. A karotinoid festékanyagok mennyisége és aránya növekszik, a C-vitamin tartalom is emelkedik, amíg a lebontó folyamatok nem kerülnek túlsúlyba ([http2](#)).

2.4. A paprika beltartalmi értékei

A paprika lényeges beltartalmi anyagai túlnyomórészt nem nemesítői munka, és nem is a tudatos szelekció eredményei, hanem a faj öröklött jellemzői (Zatykó, 1994). A legjobb minőségű beltartalommal a *Capsicum annuum* fajhoz tartozó típusok rendelkeznek (Lantos, 2018).

A paprika összetevői közül leggyakrabban a C-vitamin tartalmat emelik ki, amely jelentős, elérheti a 300 mg/100 g-ot (átlagosan 150-250 mg/100 g), mennyisége függ a fajtától, az érettségi állapottól, a termesztéstechnológiától. Ezenkívül található benne: A-, E-, B₁-, B₂-, B₃-, B₄-, B₅-, B₆-, B₉- vitamin. Ásványi anyagok közül kiemelkedő a kálium tartalma, de említést érdemel a foszfor, magnézium, kalcium, nátrium, vas, cink, mangán és réztartalom. Jelentős élettani hatással bír a kapszaicin és flavonoid tartalma. Tartalmaz emészthető nyers fehérjéket, karotinoidokat, egyes szénhidrátokat (fruktóz, glükóz), és kis mennyiségben zsírt (Lantos, 2018; [http3](#)).

A legmagasabb C-vitamin tartalom a biológiai érettségű bogyókban van, zsenge termésekben csak 8%-a található meg, 4-5 nappal a bogyó teljes fejlettsége előtt ez a mennyiség 30% (Nagy, 1977; Terbe et al., 2001).

Orbán és munkatársai (2011) 18 °C-os tárolási hőmérsékleten vizsgálták a paprikabogyóban végbemenő folyamatokat a betakarítás után, ez hasonló körülmény a boltok hűtetlen polcaihoz. Figyelemmel kísérték az utóérés során a színbeli változásokat, a C-vitamin tartalmat és a peroxidáz enzim aktivitást. Általában két fő csoportot különböztetnek meg a színváltozás alapján, a fehérből érő és a zöldből érő típusokat. A legjobb táplálkozási tulajdonságokkal a teljesen érett paprika rendelkezik. A végleges méretét még el nem ért termések fonnyadtak a legjobban. A C-vitamin tartalom a féléretten szedett paprikánál emelkedett, a teljes érettség elérése után csökkent, kápia típusnál már a tárolás kezdetétől

csökkent. A peroxidáz enzim aktivitás a C-vitaminhoz hasonlóan változott, először nőtt, majd csökkenni kezdett.

A paprikatermésben a fejlődése és érése során klorofilok, karotinoidok, antociánok, flavonoidok halmozódnak fel eltérő mennyiségben, ezek alakítják ki a bogyó színét. A színyanyagok fontos élettani hatása az antioxidáns-, szabadgyökfogó hatás. A paprika csípősségeért a kapszaicin felelős, amely csak a *Capsicum* génuszban van jelen. Napjainkban a gyógyászatban is alkalmazzák fájdalomcsillapítóként, vagy az idegrendszerre gyakorolt kedvező biológiai hatásai miatt. A szénhidrátokon belül az élelmi rostoknak fontos szerepe van az egészséges emésztésben, 100 g friss paprikában 3-4 g található belőle (Ledóné, 2021).

2.5. A paprika tárolása

A nemesítésnél nem volt cél az eltarthatóság növelése, ellentétben a különböző mennyiségi és minőségi tulajdonságokkal, úgy, mint terméshozam, termés színe, mérete, alakja, csípőssége, terméshús vastagsága és a betegségekkel szembeni ellenállóság (Paran és Knaap, 2007).

A paprika eltarthatósága nagyban függ a tárolási hőmérséklettől. Ennek a paraméternek a szabályozása a leghatékonyabb eszköz a friss termények, így a paprika tárolhatósági idejének megnyújtására, és a minőség megőrzésére (Leon et al., 2013). A különböző fajták különböző tárolhatósági tulajdonságokkal rendelkeznek, más tárolási hőmérsékletet igényelhetnek, és eltérő érettségi állapotban kell betakarítani őket (Tsegay et al., 2013). A piaci igényeknek megfelelően az újabb módszerek segítségével sikerült meghosszabbítani ennek a romlandónak mondható terménynek az eltarthatóságát (Banaras et al., 2005).

A fajtatípus is befolyásolja a pultontarthatóságot. A fehér Tv paprika technológiai érettségben szedve nem nagyon tárolható minőségi romlás nélkül 7-10 °C-on 15 napnál tovább, a fellépő fonnyadás miatt. Ezzel szemben a biológiai érettségben szedett kápia típusok tárolhatósága jobb, mivel magasabb a szárazanyag tartalmuk (Ledóné, 2021).

Hűtéssel lassíthatóak azok az intenzív légzési folyamatok, amelyek az éréshez szükségesek. Az utóérés helyett romlás következik be, ha a termésen sérülés van. Csomagolás használatával csökkenthető az apadási veszteség, a perforált fólia előnye a zárt fóliával szemben, hogy elkerülhető a befülledés. Zárt fóliás csomagolásnál a páralecsapódás elősegítheti a romlást (<http2>). A módosított atmoszférájú csomagolás (MAP) 8 °C-on 7 nappal,

20 °C-on 10 nappal hosszabbította meg a tárolhatóságot, a csomagolatlan paprikához képest. A MAP csökkentette a vízvesztést, lassította a színesedést és késleltette a betegségek kialakulását (Banaras et al., 2005).

Minél magasabb a tárolási hőmérséklet, annál gyorsabb a romlás mértéke. A hűtött tárolás a legjobb módja a paprika minőségének megóvására, de megfelelő érettségi állapotú és mechanikai sérüléstől mentes terméseket kell betárolni (Afam-Ezeaku et al., 2021).

A betakarítás utáni veszteség kaliforniai paprikánál elérheti a 40%-ot, amelyet különböző kémiai, fizikai és technikai megoldásokkal igyekeznek csökkenteni, ilyenek például a szabályozott légterű tárolás, csomagolási mód, forró vízbe mártás, ehető bevonat használata, illóolaj és más egyéb környezetbarát technológiák alkalmazása. Korlátozott eltarthatóságát a gyors fonnyadásra való hajlam és a gombás fertőzésekre való érzékenység okozza (Tiamiyu et al., 2023). Fallik és munkatársai (1996) azt tapasztalták, hogy amikor pirosra érett paprikát 3 percre 50 °C-os vízbe mártották, akkor teljesen megelőzték, illetve jelentősen csökkentették az *Alternaria* és a *Botrytis* által okozott romlást, káros minőségi változások nélkül.

A betakarítás után minél hamarabb le kell hűteni a paprikát az osztályozás és csomagolás előtt, ez az előhűtés, ami 7 °C alá nem mehet. Ezzel elkerülhető a korai vízvesztés és fonnyadás, ehhez magasabb relatív páratartalom is szükséges. A paprika 7 °C-on, 90-95%-os relatív páratartalom mellett 2-3 hétig tárolható, a fólia csomagolás növelheti az időtartamot. 13 °C felett felgyorsulnak az érési és romlási folyamatok. A fajták különböző igényeinek megfelelően az optimális tárolási hőmérséklet 7 °C és 13 °C között van (Gonzalez-Aguilar, 2016).

Bahnasawy és munkatársai (2018) azt tapasztalták, hogy amikor a tárolási hőmérsékletet 25-ről 10 °C-ra csökkentették, a vizsgált fajták esetében az eltarthatóság 20-ról 46 napra nőtt. Alacsonyabb hőmérsékleten a kisebb légzési és párolgási intenzitás növelte az eltarthatóság idejét. A nitrogén, foszfor, kálium, kalcium, magnézium százalékos aránya és a szárazanyag-tartalom a magasabb hőmérsékleten volt nagyobb. A tárolási súlyvesztést a fajta is befolyásolja, alacsonyabb hőmérsékleten kisebb mértékű, és a tárolási idő növelésével emelkedik (Khater és Afify, 2021).

2.5.1. A tárolás során jelentkező problémák

Betakarítás után a paprika minőségvesztése különböző formában jelentkezhet, ilyenek a vízvesztés, hidegkárosodás a tárolás alatt, mikrobiológiai eredetű, elsősorban penészgombafajok okozta károsodás és érzékszervi változások (szín, íz, illat). Az étkezési paprika víztartalma 90% körüli, ezért fokozottan érzékeny a vízvesztésre, ami fonnyadás formájában jelentkezik. A fonnyadás először tapintással érzékelhető, majd szemmel látható ráncok is megjelennek a bogyó felszínén. A 4% tömegvesztés már fonnyadást, a 6% feletti pedig már a felület ráncosodását okozza (Zsom, 2007).

A betakarítás utáni fő problémát a termések vízvesztése és romlása jelenti. A tárolás során bekövetkező súlyvesztés mértékét a tárolási körülmények is befolyásolják: a relatív páratartalom, a szellőzés, a csomagolás módja, a tárolás időtartama és hőmérséklete és a betárolt termés mérete (O'Donoghue et al., 2017).

Túl alacsony tárolási hőmérséklet hatására minőségromlás következik be, mivel a paprika érzékeny a tárolási idő alatti meghülésre (chilling injury). Ilyen tünetek a felszíni gödrösödés, egyenetlen színeződés, felgyorsult öregedés, belső barnulás és a megnövekedett vízvesztés miatti fonnyadás. A hidegre való érzékenység függ a fajtától és a betakarítási érettség állapotától is. Az érett beszíneződött paprikák jobban ellenállnak a hidegnek (O'Donoghue et al., 2017). A hidegkárosodás a kritikus hőmérséklet alatti értéken következik be, ez a károsodás mértékétől függően általában irreverzibilis folyamat. Az első látható jelek paprikánál általában 7 °C alatt jelentkeznek, de ténylegesen kitárolás után, magasabb hőmérsékleten fejlődnek ki (Miller és Risse, 1986).

2.5.2. A paprika tárolási kórokozói

A paprika érzékeny a betakarítás utáni különböző betegségekre. A két legelterjedtebb a szürkepenész (*Botrytis cinerea*) és az alternáriás foltosodás (*Alternaria alternata*). Ezek a kórokozók a betakarításkor már jelen vannak a termés felszínén, és a tárolás során képesek megfertőzni a szöveteket (Tiamiyu et al., 2023). Baktériumos lágyrothadást számos baktérium okozhat, ezek a sérült szöveteket támadják meg. A termesztés technológiai higiénia és a termések sebzéseinek, sérüléseinek megelőzése nagy arányban csökkenti a tárolási betegségek kialakulását (Gonzalez-Aguilar, 2016).

Szürkepenész (*Botrytis cinerea*) (1. ábra):

Ez a polifág kórokozó a természetben mindenütt előfordul, nagyon agresszív, a teljes vegetáció alatt, szállítás közben és hűtött tárolási körülmények között is tud nagy veszteségeket okozni. Gyorsan át tud terjedni a beteg részekről az egészséges termésekre, először puha, vizenyős foltok jelennek meg, amelyek barnulnak, majd megjelenik rajtuk a penészbevonat, a szürke konídiumtartó gyp (Glits és Folk, 2000). A betegség ellen leggyakrabban használt szintetikus gombaölőszerek helyett, a társadalmi elvárásoknak megfelelően egyre inkább előtérbe kerül a különböző természetes anyagok használata (Wang et al, 2022).

1. ábra: *Botrytis cinerea* fertőzés paprika termésen (<http4>)



Fuzáriumos penészedés (*Fusarium spp.*) (2. ábra):

A különböző *Fusarium* fajok külső és belső rothadást is okozhatnak a termésen. A virágon keresztüli fertőzés belső rothadást okoz a fejlődő termésben, de a tünetek gyakran rejtve maradnak, és a tárolás során jelennek meg. A bogyó belsejében halványbarna rothadás jelentkezik, majd megjelenik a fehér vagy barackszínű micéliumtömeg. Az alacsony hőmérséklet és a magas páratartalom kedvez a gomba terjedésének (O'Neill és Mayne, 2015).

2. ábra: Fuzáriumos penészedés paprika termésen (<http5>)



Alternáriás foltosodás (*Alternaria alternata*) (3. ábra):

A feketepenész szintén polifág, sötét besüppedt foltokat okoz, majd megjelenik rajta a micéliumbevonat, amely a fehértől a szürkés-zöldig színeződhet. Általában paradicsom alakú paprikán fordul elő. A tárolás alatti hideg hőmérséklet kedvez a gomba életfeltételeinek. Főleg sérült bogyókon fordul elő. A paprika fogékonysága a fertőzésre az érés során erősödik, ez azt jelenti, hogy a színesedő vagy teljesen beszíneződött termések, amelyek magasabb cukortartalommal rendelkeznek, érzékenyebbek (Wall és Biles, 1993). A nyitott bibepontú fajták nagyobb arányban fertőződnek. A gomba mérgező toxint termel (Glits és Folk, 2000).

3. ábra: *Alternaria alternata* fertőzés paprika termésen (<http6>)



Baktériumos lágyrothadás (4. ábra):

A paprika bogyó tárolás alatti rothadását számos baktériumfaj is okozhatja, többek között az *Erwinia*, a *Xanthomonas* és a *Cytophaga*. A baktérium csak természetes nyíláson vagy sebzésen keresztül tud fertőzni, gyakran a kocsány sebén keresztül jut a bogyóba, ahol rövid időn belül puha, pépes állományt alakít ki, vizenyőssé válik a bogyó, csak a bőrszövet tartja össze. A tárolás során a páralecsapódás kedvez a fertőzésnek, ami az egészséges bogyóra is könnyen áterjed, így tud nagyobb veszteségeket okozni (O'Neill és Mayne, 2015).

4. ábra: Baktériumos lágyrothadás paprika termésen (<http7>)



2.6. A paprika színanyagai

A paprika termésszíne nagyon változatos lehet. A gazdaságilag érett bogyó színe lehet a fehér különböző árnyalata (elefántcsontfehér, sárgásfehér, zöldesfehér), világos vagy sötétebb zöld, vagy akár valamilyen lilás árnyalatú (Stommel és Griesbach, 2008). Biológiai érettségben a termés maradhat fehér vagy zöld, de lehet sárga, narancssárga, piros, barnás és lila (Li et al., 2013). A termés színét háromféle színanyag határozza meg: klorofillok, karotinoidok, antociánok (Aza-Gonzalez et al., 2013).

A paprika klorofill tartalmának kutatása során Deli (2001) megállapította, hogy a zöld, éretlen paprikabogyó klorofillban igen gazdag. A kísérlet során hat érési stádiumot különített

el. Azt tapasztalta, hogy pirosra érő típusnál csak az első négy stádiumban volt jelen a klorofill, tehát amikor a bogyó eléri a piros színt, a zöld klorofill eltűnik. A zöld színű hegyes erős paprikák a gazdasági érettség állapotában tartalmazzák a legtöbb klorofillt.

A karotinoidok a bogyó érése során termelődnek vagy alakulnak át. Többnyire vízben nem, de zsírban és alkoholban jól oldódnak. Humánéletteni szerepük jelentős, az antioxidáns hatásuk a legkiemelkedőbb. A karotinoidok szerkezeti felépítésük alapján lehetnek karotin- vagy xantofill származékok. Az érés során az etilén hormon termelődése indítja el a bogyóban a piros színű karotinoidok képződését. A kapszantin és a kapszorubin molekulák a vörös szín fő meghatározói (Lantos, 2018).

2.6.1. Az antociánok jelentősége

Az antociánok vízben oldódó színanyagok a növényekben, a flavonoidokhoz tartoznak, több szín kialakításáért felelősek: vörös, kék, lila (Liu et al., 2018). Pozitív hatással vannak az egészségre, antioxidáns, rákellenes és öregedésgátló hatásuk van, ezenkívül megelőzik a szív- és érrendszeri betegségeket, védik a látást és javítják a memóriát (Yousuf et al., 2016). Az antociánban gazdag lila paprika jobban tolerálja a magasabb hőmérsékletet és a szárazság okozta stresszt is jobban elviseli. Paprikában a delfinidin származékok felelősek a lila termésszínért (Meng et al., 2022).

Az antocián színanyagok érzékenyek a pH-ra, a fényre, a hőmérsékletre és a fémionokra. Végző színüket a vakuólum pH-ja határozza meg. Poláris jellegű vegyületek, ezért a poláris oldószerek (például metanol, etanol) használata hatékonyan segíti az extrakciójukat, amelyet befolyásol a hőmérséklet is (Alappat és Alappat, 2020). Több tanulmány foglalkozott már az antociánok antimikrobiális hatásával (Pojer et al., 2013; Cote et al., 2011; Cisowska et al., 2011). Ezt a hatást a sejtfal, a sejtmembrán és az intercelluláris mátrix elpusztításával fejtik ki. A mikrobiális anyagcserét is befolyásolják azzal, hogy megfosztják a szerkezetet a növekedéshez szükséges szubsztátóktól. Az antociánok a szabadgyökmegkötő képességük miatt a legerősebb antioxidánsok közé tartoznak.

Az antocián bioszintézisét több környezeti tényező is befolyásolja, de leginkább a genetikai háttér határozza meg, ami alaposan kutatott terület (Liu et al., 2018). A lila, illetve a fekete szín felhalmozódásáért és intenzitásáért egy részlegesen domináns *A* gén és egy módosító gén (*MoA*) felel (Daskalov és Poulos, 1994). A bioszintézisben a reakciólépéseket katalizáló enzimeket kódoló strukturális gének és az ezek kifejeződését befolyásoló transzkripció

faktorokat kódoló szabályozó gének vesznek részt (Gonzali et al., 2009). A termések antocián tartalma és azok antioxidáns kapacitása között szoros pozitív összefüggés van, ezenkívül az antociánok hozzájárulnak a termések antimikrobiális aktivitásához *E. coli* és *E. faecalis* esetén (Kovács, 2023).

Több tanulmány is beszámolt arról, hogy az antociánok hozzájárulnak a kórokozókkal szembeni rezisztenciához, illetve toleranciához. Az antociánban gazdag mangó rezisztens a *Colletotrichum gloeosporoides* ellen, szemben a zöld gyümölcscsel (Sivankalyani et al., 2016). Almánál erősebb ellenállást figyeltek meg *Erwinia amylovora* és *Venturia inaequalis* fertőzéssel szemben (Flachowsky et al., 2010). Az antociánhiányos *Arabidopsis thaliana* viszont érzékenyebb lett a *Verticillium* fertőzésre (Lei et al., 2018). Az antociánban gazdag burgonya ellenállóságot mutatott a *Pectobacterium carotovorum*-mal szemben (Wegener és Jansen, 2007). A magasabb antociántartalmú vérnarancs ellenállóbb a *Penicillium digitatum* tárolási kórokozóval szemben a közönséges narancshoz képest, viszont antociános exogén kezeléssel növelhető a közönséges narancs ellenállósága (Lin et al., 2021).

Az eltarthatóságot befolyásolja a betakarítás utáni érzékenység a kórokozó fertőzésekre. Paradicsomnál megfigyelték, hogy a héjban felhalmozódó antociánok csökkentik a *Botrytis cinerea*-val szembeni érzékenységet, ami az egyik legjelentősebb post harvest kórokozó. A lila termés magasabb antioxidáns kapacitása lassítani tudja a túlérési folyamatokat, így megduplázódhat a pulton tarthatósági idő (Zhang et al., 2013). A paradicsomban egy domináns gén antocián termelést és felhalmozódást eredményez a termés héjában, az erős fény indukálja ezt a folyamatot. Attól függően, hogy éri-e fény, a termésnek lehetnek lila és piros részei is (Mes et al., 2008). Zhang és munkatársai (2015) különböző színanyag tartalmú paradicsomokat vizsgáltak. Összehasonlították egy vad típusú piros, egy megnövelt flavonoid tartalmú narancsszínű és egy magas antocián tartalmú lila színű vonal eltarthatóságát és ellenállóságát botritisszel szemben. A magasabb összes flavonoid tartalom nagyobb antioxidáns kapacitást eredményez, tehát a narancsszínű paradicsom ellenállóbb, mint a vad típusú piros, de a legerősebb antimikrobiális hatással a magas antocián tartalmú lila bogyók rendelkeztek.

Egy kísérlet során a lila paradicsom 70 nap alatt, míg a kontroll piros fajta 42 nap alatt puhult meg teljesen, és a lila bogyóban nem indult meg a korai csírázás. A nem egyenletes fényben kifejlődő lila termések piros régiói is normál túlérési folyamaton mentek keresztül. Egy másik kísérletben mesterségesen fertőztek *Botrytis cinerea*-val piros, lila és vegyes színű terméseket. Azt tapasztalták, hogy a lila területeken szignifikánsan kisebb volt a fertőzés aránya, és csökkent a gomba szaporodása, tehát a terméshéjra korlátozódó antocián

felhalmozódás elegendő ahhoz, hogy csökkentse a kórokozóval szembeni érzékenységet. Olyan fajták nemesítése (akár hagyományos módszerekkel, akár géntechnológiával), amelyeknél magasabb az ilyen színanyagtartalom a héjban, meghosszabbíthatja az adott paradicsomfajta eltarthatóságát (Bassolino et al., 2013).

Jian és munkatársai (2023) a SIMYB75 gén túlzott expressziójával genetikai módosítással előállított lila paradicsomot vizsgáltak. Ők is igazolni tudták a magasabb antociántartalom, és így a megnövekedett antioxidáns kapacitás következményeként tapasztalható hosszabb eltarthatósági időt, és a szürkepenésszel szembeni erősebb ellenállóságot a vad típusú piros paradicsomhoz képest.

A két fő környezeti tényező, amely befolyásolja az antocián termelődést, a fény és a hőmérséklet. Petric és munkatársai (2018) természetes eredetű antociánban gazdag paradicsomot vizsgáltak 12 °C-on és szobahőmérsékleten, és ezt kombinálták világos és sötét tárolási körülményekkel. Azt tapasztalták, hogy az alacsonyabb hőmérséklet és fény párosítása eredményezte a nagyobb mértékű antocián felhalmozódást, tehát ilyen körülmények között alakul ki magasabb antioxidáns tartalom, ez hosszabb eltarthatósági időt, és nagyobb ellenállóságot eredményez a tárolási betegségekkel szemben.

3. Anyag és módszer

3.1. A kísérletekhez felhasznált növényi anyag

A munkám három különböző lépéséhez használtam fel növényi anyagot (elsősorban paprikákat):

1. A patogén gombákat szupermarketben vásárolt gombás fertőzés tüneteit mutató paprikákról izoláltam (5. ábra).
2. Az izolált kórokozókkal végzett tesztfertőzésekhez szintén boltban vásárolható tölténi való paprikát és paradicsomot használtam fel.
3. Az antimikrobiális hatás teszteléséhez lila és zöld cseresznyepaprikákból készítettem kivonatokat.

5. ábra: Különböző gombás fertőzés tüneteit mutató kereskedelmi forgalomban kapható paprikák, melyekről a kórokozókat izoláltam (Forrás: saját kép)



3.2. A kórokozók izolálása, tiszta tenyészetek készítése, törzsfenntartás

A kísérlet főbb lépései a következők voltak: táptalajok készítése, a fertőzött paprikákról tiszta kórokozók izolálása, majd tiszta tenyészetek készítése és az izolált kórokozók fenntartása. A gombák izolálásához és a törzsfenntartáshoz kétféle táptalajt alkalmaztam: burgonya- kivonat glükóz agart (PDA, Potato Dextrose Agar) és bengálrózsa-klóramfenikol agart (RBC, Rose-bengal Chloramphenicol Agar). Mindkét táptalaj alkalmas a gombák tenyésztésére, de ez utóbbit elsősorban az izoláláskor használtam fel, mivel baktérium ellenes antibiotikumot tartalmaz és ezáltal megkönnyítette a gomba kórokozó izolálását.

A burgonya felhasználásával készült PDA (Potato Dextrose Agar) táptalajhoz 300 g felkockázott burgonyát körülbelül 600 ml desztillált vízzel 45-60 percig főztem. Majd a levet szűrőpapíron át leszűrtem, ehhez mértem 20 g glükózt és 15 g agarózt, kiegészítettem 1 l-re desztillált vízzel, és 25 mg Chloramphenicol-t adtam hozzá. Kuktában történt sterilizálás után a táptalajt steril fülke alatt kiöntöttem Petri-csészékbe. Másik fajta táptalajhoz kész keverékből kimértem 29,7 g-ot 1 l desztillált vízhez, ez rose-bengal-t tartalmazott, a sterilizálása ugyanúgy történt. A harmadik táptalaj PDA keverékből készült, amelyből 39 g-ot kellett 1 l desztillált vízhez adni.

Az izoláláshoz a megszilárdult táptalajokra steril fülke alatt tettem a paprikamintákból. Az 5. ábra felső részén (A) bemutatott paprikából alkoholos felületi sterilizálás után vágtam ki egy darabot a foltból, az alsó paprikáról (B) viszont felületi fertőtlenítés nélkül, egyszerűen a gombaszövedékből csíptem ki egy darabot steril csipesszel. Ezt követően a táptalajokat 28 °C-on inkubáltam 48-72 órán keresztül. A táptalajokon többféle gombatelep is felnövekedett, ezekből tiszta tenyészetet készítettem (ld. eredmények), melyeket PDA táptalajon tartottam fent és ezeket használtam a DNS izoláláshoz és a fertőzéses kísérletekhez is.

3.3. A DNS kivonás protokollja

A DNS izolálást a Macherev-Nagel Nucleospin Plant II kittel végeztem el, a gyártó utasítása alapján, melynek a főbb lépései a következők:

1. A táptalaj felületéről mozsárba kapartam a kialakult tenyészetet és folyékony nitrogén segítségével eldörzsöltem. A kapott por állagú mintát 1,5 ml-es Eppendorf csőbe helyeztem.

2. A mintához 400 µl PL1 puffert, 5 µl RNaseA-t és 5 µl ProteinaseK-t adtam, majd homogénre vortexeltem.
3. A mintát 65 °C-os vízfürdőn inkubáltam körülbelül 45 percig.
4. A mintát maximális sebességen (13000 rpm) 5 percig centrifugáltam.
5. A felülúszót átpipettáztam új csőbe, hozzáadtam 450 µl PC puffert és összeráztam.
6. A folyadékot átpipettáztam egy szűrőbetétes csőbe, centrifugáltam 1 percig, és kiöntöttem a folyadékot.
7. A szűrőbetétre pipettáztam 400 µl PW1 puffert, centrifugáltam 1 percig, majd kiöntöttem a folyadékot.
8. Hozzáadtam 700 µl PW2 puffert, 1 percig centrifugáltam, ismét kiöntöttem a folyadékot.
9. Hozzáadtam 200 µl PW2 puffert, 2 percig centrifugáltam.
10. A szűrőbetétet 65 °C-on 5 percig szárítottam.
11. A szűrőbetétet új csőbe rakva, pipettáztam rá 50 µl PE puffert, 65 °C-on melegítettem 5 percig, és centrifugáltam 1 percig. Újabb 50 µl PE pufferrel megismételtem ezt a lépést, majd eltávolítottam a szűrőbetétet.

Az ezzel a módszerrel kivont DNS-ek koncentrációját Thermo Scientific NanoDropTM 1000 Spectrophotometer készülékkel mértem, illetve agaróz gél elektroforézissel ellenőriztem.

3.4. A PCR protokollja

Az izolált kórokozók pontos meghatározását ITS szekvenciák elemzésével végeztem el. Ehhez első lépésként az izolált DNS-ből PCR-t indítottam az

ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' és

ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' primerek alkalmazásával.

A polimeráz láncreakciót DreamTaq polimerázzal végeztem el BioRad T100 Thermal Cycler típusú PCR készülékkel (6. ábra). A PCR reakció főbb lépései a következők voltak:

A PCR reakcióhoz először jégen kimértem a mastermix összetevőit:

- | | |
|--------------------|---------|
| 1. Desztillált víz | 4,35 µl |
| 2. 10x Puffer | 1 µl |
| 3. Forward primer | 0,75 µl |

- | | |
|------------------------------------|--------------|
| 4. Reverse primer | 0,75 μ l |
| 5. 50 mM MgCl ₂ | 0,1 μ l |
| 6. 2 mM dNTP | 2 μ l |
| 7. DreamTaq polimeráz 5 U/ μ l | 0,05 μ l |

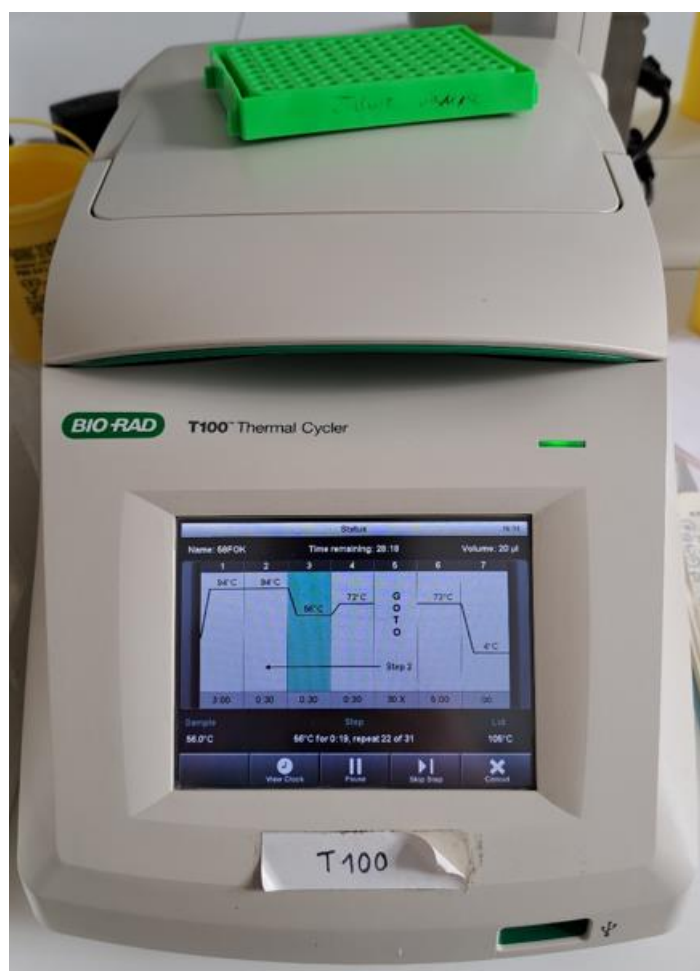
Egy PCR csőbe 18 μ l mastermix és 2 μ l DNS minta került.

A reakció az alábbi beállítások szerint zajlott:

1. elő-denaturáció: 94 °C-on 3 perc
2. 30 cikluson keresztül:

denaturálás:	94 °C-on 30 másodperc
primer kapcsolódás:	56 °C-on 30 másodperc
DNS elongáció:	72 °C-on 30 másodperc
3. utópolimerizáció: 72 °C-on 5 perc

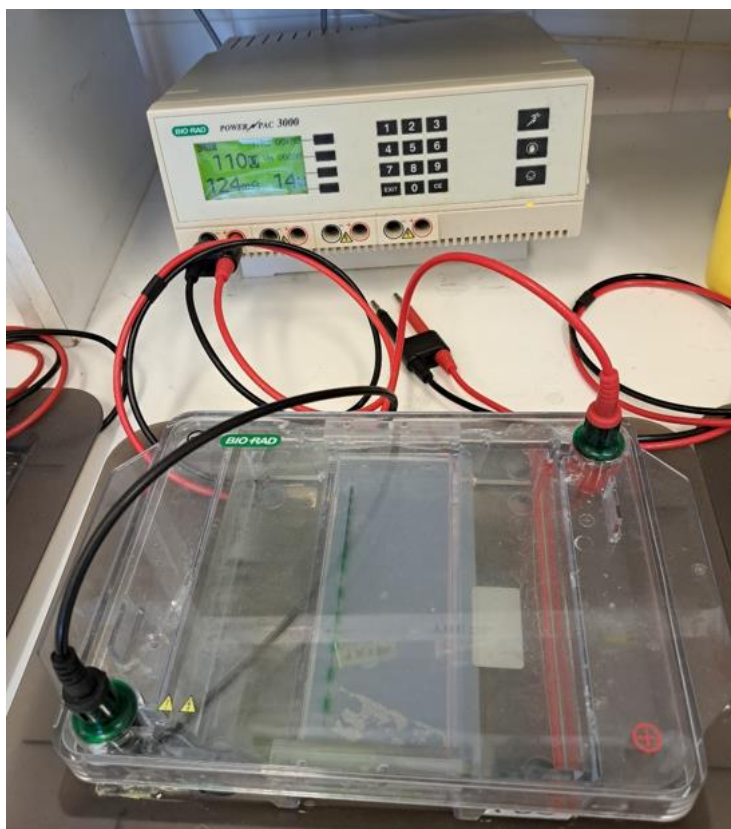
6. ábra: BioRad Thermal Cycler típusú PCR gép (Forrás: saját fotó)



3.5. A PCR termékek elválasztása agaróz gélelektroforézissel

A keletkezett PCR termékek elválasztásához agaróz gélelektroforézist alkalmaztam. A gélelektroforézishez 1%-os agaróz gélét készítettem 0,5x TBE pufferrel. Kimértem 1 g agarózt, ezt felöntöttem 0,5x TBE pufferrel 100 ml-re. Addig melegítettem, amíg az agaróz teljesen fel nem oldódott. Folyóvíz alatt visszahűtöttem, és hozzáadtam 10 μ l etídium-bromidot, és tálcába öntöttem. Belehelyeztem a fésűt és hagytam megszilárdulni a gélét. Ezt követően a tálcát a futtató kádba helyeztem, kivettem a fésűt és pótoltam a puffert, hogy ellepje a zsebeket. A zsebekbe belepipettáztam a mintákat és a DNS molekulásúly markert (Thermo Scientific GeneRuler 100 bp DNA Ladder). A géleket 0,5x-es TBE pufferben futtattuk 110 V-on körülbelül 30 percen keresztül (7. ábra).

7. ábra: A PCR termékek elválasztása agaróz gélelektroforézissel (Forrás: saját fotó)



3.6. A gélből kivágás és visszatisztítás protokollja

A megfelelő fragmentumokat UV fény alatt kivágtam (8. ábra), és ezeket tisztítottam vissza a Macherey-Nagel Nucleospin Gel & PCR Clean-up kittel a gyártó utasításai szerint, melynek a legfontosabb lépéseit az alábbiakban foglalom össze:

1. A kivágott géldarabot Eppendorf csőbe tettem. Adtam hozzá 200 μ l NTI puffert.
2. 5-10 percig melegítettem, közben többször rázattam, amíg teljesen fel nem oldódott.
3. Új csőbe szűrőbetétre raktam át, majd fél percig centrifugáztam, a folyadékot kiöntöttem.
4. Hozzáadtam 700 μ l NT3 puffert, fél percet centrifugáztam, kiöntöttem a folyadékot, majd ezt újabb 700 μ l NT3 pufferrel megismételtem.
5. További egy percig centrifugáztam, majd 2-5 percig melegítettem a szűrőbetétet, hogy a maradék alkohol elpárologjon.
6. Új csőbe helyezve a szűrőbetétet, pipettáztam rá 20 μ l NE puffert, majd szobahőmérsékleten hagytam inkubálódni egy percig.
7. Egy perc centrifugázás után a cső aljában ott volt a DNS minta.

Az így visszatisztított fragmentumokat a gödöllői BIOMI Kft. laboratóriumába küldtük szekvenáltatni az ITS primerekkel.

8. ábra: UV fény alatt jól látható DNS fragmentumok (Forrás: saját fotó)



3.7. Táptalaj készítés paprikakivonattal és beoltás

Táptalaj készítéséhez lila és zöld cseresznyepaprikát használtam (9. ábra), ezeket Csilléry Gábor biztosította. A paprikákat kimagoztam, ledaráltam, centrifugáltam, és a belőlük kinyert levet 0,45 µm-es szűrőn sterilre szűrtem. A kétszeres töménységű PDA-t egyszeresre hígítottam a steril paprikalével. Az így készült táptalajokra 5 µl előre beállított koncentrációjú patogén szuszpenziókat ($4,5 \cdot 10^4$ db spóra/ ml) pipettáztam.

9. ábra: A paprikakivonatok elkészítéséhez felhasznált lila és zöld cseresznyepaprikák (Forrás: saját fotó)



3.8. Értékelés

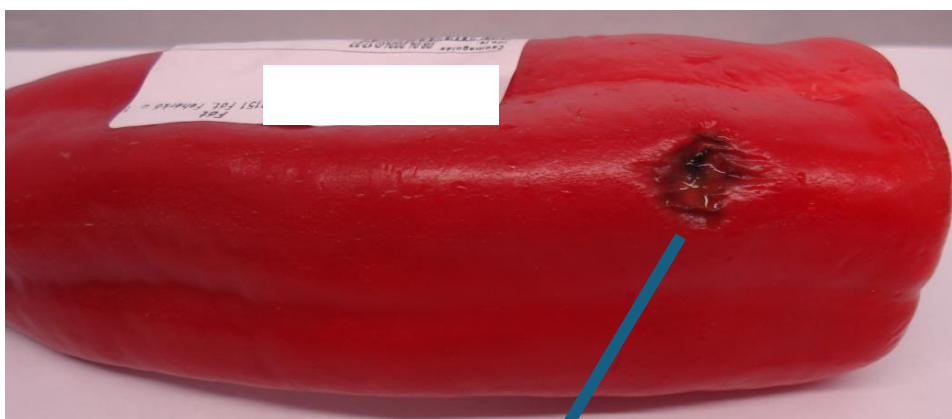
A kapott szekvencia adatokat a BioEdit 7.2 szoftverrel elemeztem és az NCBI (National Center for Biotechnology Information) adatbázisban található szekvenciákkal vettem össze a Blast kereső algoritmussal (Altschul et al., 1990). A *B. cinerea* paprika kivonatokkal dúsított PDA táptalajon történő növekedési erélyének vizsgálatát elemző ANOVA az IBM SPSS Statistics 27 szoftverrel készült.

4. Eredmények és értékelésük

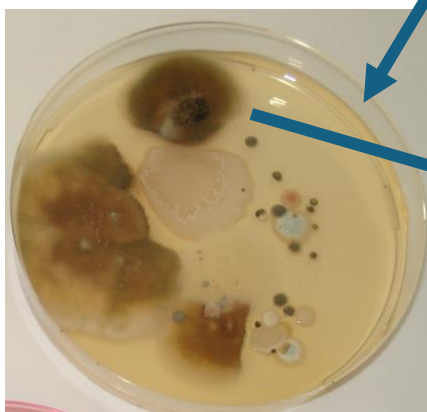
4.1. Tiszta tenyészetek létrehozása

A tiszta tenyészetek létrehozását egy többlépcsős folyamat előzte meg. Az alkoholos felületkezelés után a nyíllal jelölt besüppedő foltból (10. ábra) egy darabot PDA táptalajra helyeztem. Ahogy a 11. ábrán is látszik, a tenyészet nem volt tiszta, így addig folytattam a patogén átoltását friss táptalajokra, amíg tiszta tenyészetet kaptam (12. ábra). Ez lett az 1.2-es izolátum.

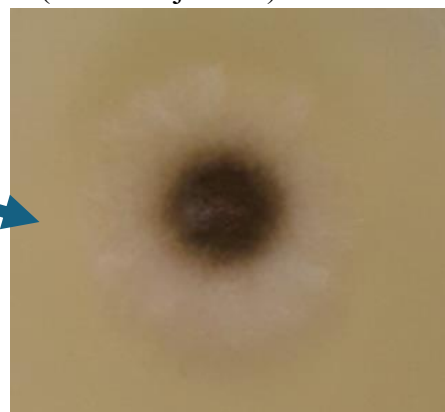
10. ábra: Kórokozó izolálása paprikáról (Forrás: saját fotó)



11. ábra: A PDA táptalajon felnövekedett gombatelepek (Forrás: saját fotó)



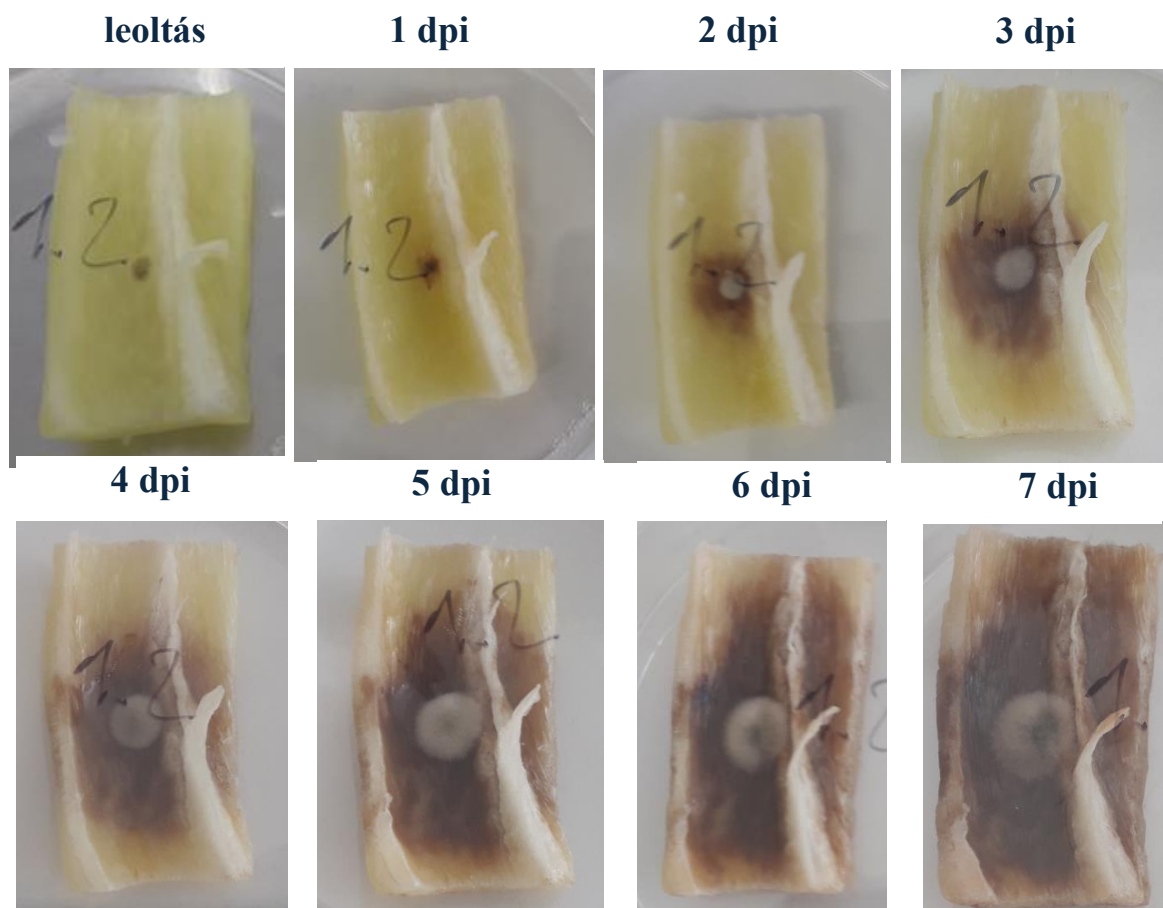
12. ábra: 1.2 izolátum tiszta tenyészete, 48 óra elteltével, PDA táptalajon (Forrás: saját fotó)



Az izolált kórokozóval (1.2 izolátum) tesztfertőzést végeztem, azaz visszafertőztem a paprikát, ezzel igazolva, hogy ténylegesen a patogén gombát izoláltam. Ehhez a folyamathoz kereskedelmi forgalomban kapható paprikákat alkalmaztam, melyeket első lépésként 3%-os hipóval sterilizáltam, majd kisebb darabokra vágtam steril pengével és steril műanyag Petri-

csészékbe helyeztem. A fertőzéshez a kiválasztott izolátumból spóraszuszpenziót (kb. $1 \cdot 10^6$ spóra/ ml) készítettem. A paprikák felszínét egy steril fogpiszkálóval megsúrtam és a fertőzést a sérülésnél végeztem el. Ennek során 10 μ l spóraszuszpenziót juttattam a paprika darab belső felére, majd a fertőzés tüneteinek megjelenését naponta ellenőriztem (13. ábra).

13. ábra: 1.2 izolátummal végzett tesztfertőzés eredménye hét nap alatt (dpi: days post-infection, a fertőzéstől eltelt napok száma) (Forrás: saját fotó)



Az 1.2 izolátummal végzett tesztfertőzés során, a paprika belső oldalán napról napra növekedő barnás színű, közel kör alakú rohadó foltot tapasztaltam, melynek közepében szürkés színű, szintén kerek, de a barna foltnál kisebb gombatelep növekedett.

A második paprikáról a szürke telepről (14. ábra) helyeztem egy darabot táptalajra. A telep már másnapra növekedésnek indult (15. ábra). Itt szintén addig folytattam a patogén átoltását újabb táptalajokra, amíg tiszta lett a tenyészet (16. ábra). Ennek a folyamatnak az eredménye lett az 5. izolátum.

14. ábra: Kórokozó izolálása a paprikáról, tiszta tenyészet létrehozása (Forrás: saját fotó)



15. ábra: Közvetlen kioltás a paprikáról, RBC (rose-bengal) táptalajon (Forrás: saját fotó)

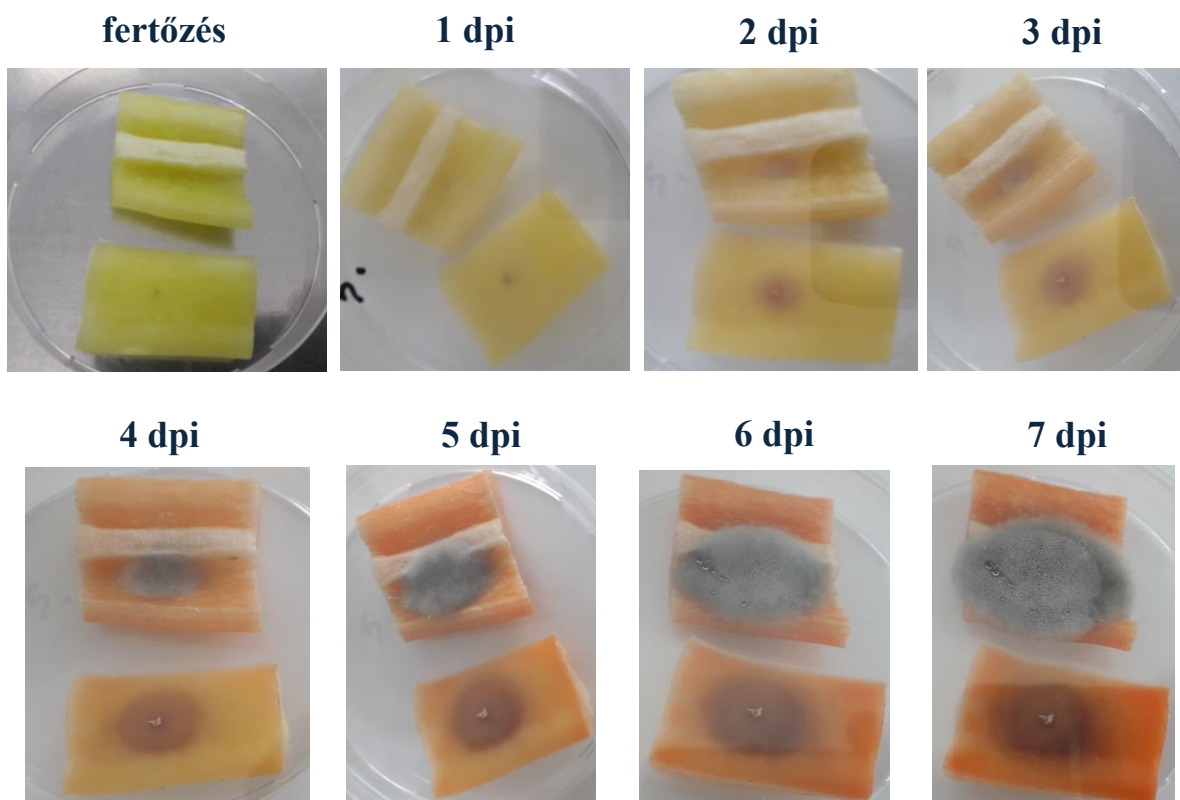


16. ábra: 5. izolátum tiszta tenyésze 48 óra elteltével PDA táptalajon (Forrás: saját fotó)



Az 5. izolátummal szintén végeztem tesztfertőzést, hogy ennek a fertőzésnek is lássam a fenotípusos megjelenését. A folyamat főbb lépései megegyeztek a korábban leírtakkal, de ebben az esetben a paprikák külső és a belső oldalán is sérülést ejtettem steril fogpiszkálóval. Ennek eredményeként a paprika külső oldalán egyre növekedő világosabb barna kerek foltot tapasztaltam, a szúrásnyomnál fehér folttal. A belső oldalon a barna foltot teljesen elfedő vastag szürke konídiumtartó gyepek képződött (17. ábra).

17. ábra: 5. izolátummal végzett tesztfertőzés eredménye hét nap alatt (Forrás saját fotó)



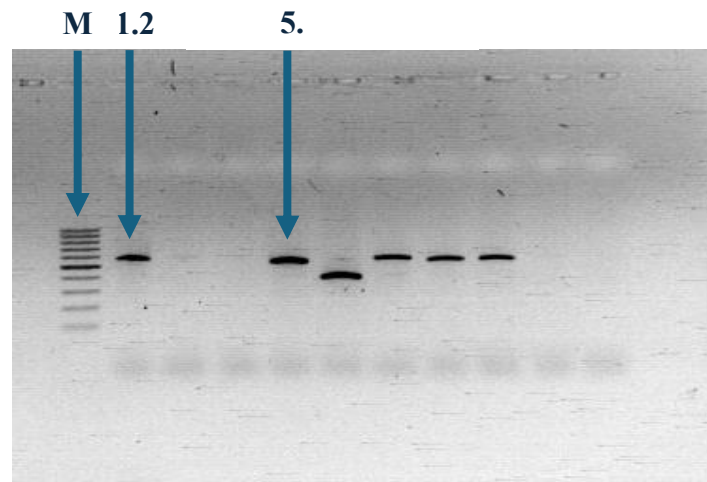
Ezzel az izolátummal paradicsomot is fertőztem. A paradicsomon a szúrásnyomnál a paprikához hasonlóan szintén szürke, kerek foltként jelentkező gombaképlet alakult ki (18. ábra).

18. ábra: 5. izolátummal végzett tesztfertőzés paradicsomon (Forrás: saját fotó)



A fertőzéshez használt izolátumok pontos azonosítását szekvenálással végeztem el. A tiszta tenyészetekből DNS-t izoláltam, amelyekkel PCR-t indítottam. Ennek eredménye a gélelektroforézis után a 19. ábrán látható, ahol nyíllal jelöltem az 1.2 és az 5. izolátumokra jellemző fragmentum méreteket.

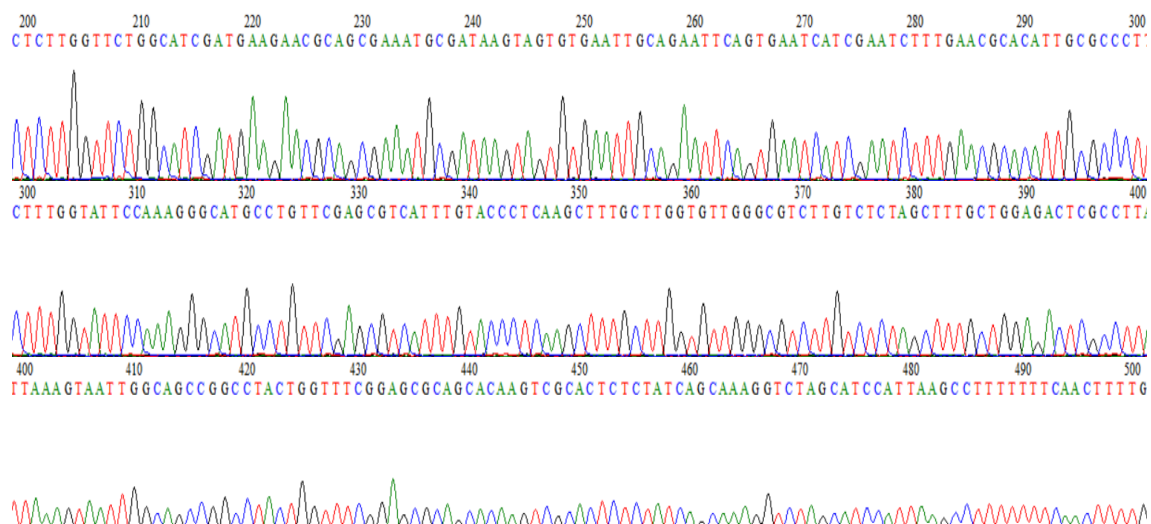
19. ábra: ITS1 és ITS4 primerrel végzett PCR, első nyíl a létra (M: Thermo Scientific GeneRuler 100bp), második nyíl az 1.2 izolátum, harmadik nyíl az 5. izolátum (Forrás: saját fotó)



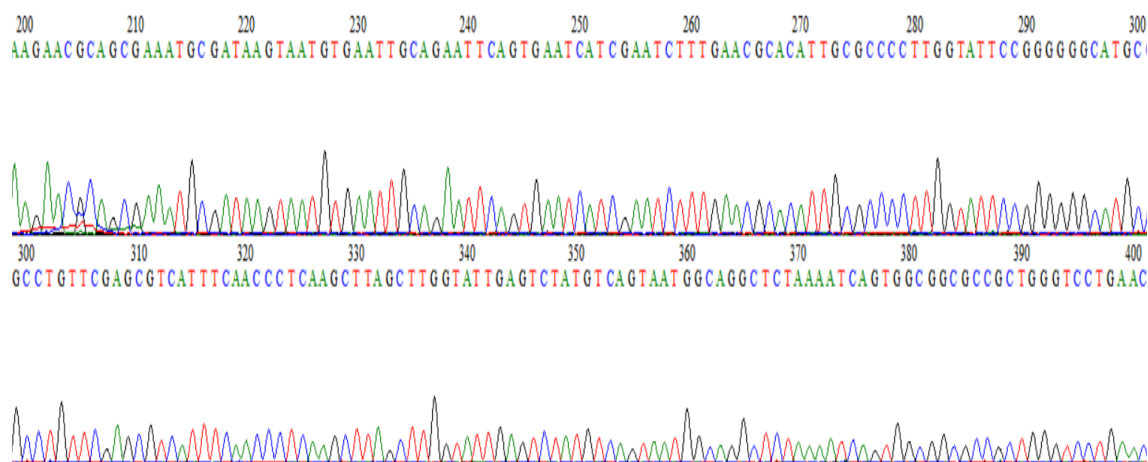
4.2. Patogének azonosítása

A gélből kivágott fragmentumokat visszatisztítottam és a BIOMI Kft. (Gödöllő) laborjában megszekvenálták. A szekvenálás eredménye a 20. és a 21. ábrán látható.

20. ábra: Az 1.2 izolátum szekvencia elektroferogramja 200-500 bp között (Forrás: BIOMI Kft.)



21. ábra: Az 5. izolátum szekvencia elektroferogramja 200-400 bp között (Forrás: BIOMI Kft.)



A kapott szekvenciákat az NCBI adatbázisban azonosítottam Blast kereső algoritmussal, amelynek eredményét az 1.2 izolátum esetében a 22. ábra, az 5. izolátum esetében pedig a 23. ábra mutatja be. Az 1.2 izolátum esetében 100% lefedettség mellett 100%-os hasonlóságot mutatott az adatbázisban tárolt és *Alternaria alternata*ként azonosított szekvenciákkal. Az 5. izolátum 98%-os hasonlóságot mutatott *Botrytis cinerea* szekvenciákkal. A táptalajon mutatott növekedés, a fertőzés tünetei és a szekvencia adatok alapján egyértelműen kijelenthetjük, hogy az 1.2 izolátum *A. alternata*, az 5. izolátum pedig *B. cinerea*.

22. ábra: Az 1.2 izolátum ITS szekvenciájának azonosításának eredménye az NCBI honlapján (Forrás: NCBI)

Job Title

RID

Program

Database

Query ID

Description

Molecule type

Query Length

Other reports

Nucleotide Sequence

GA4F739D013 Search expires on 10-09 19:05 pm Download All

BLASTN Citation

nt See details

Ic|Query_7019219

None

dna

523

Distance tree of results MSA viewer

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

Add organism

Percent Identity E value Query Coverage

to to to

Filter Reset

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download Select columns Show 100

select all 100 sequences selected

GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒	Alternaria alternata isolate YMX-8 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and in...	Alternaria alternata	966	966	100%	0.0	100.00%	540	PP980704.1
☒	Alternaria alstroemeriae strain F8487 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene an...	Alternaria alstro...	966	966	100%	0.0	100.00%	544	PP702669.1
☒	Alternaria alternata voucher GLEF53 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene an...	Alternaria alternata	966	966	100%	0.0	100.00%	545	QQ591984.1
☒	Alternaria alternata voucher GLEF48 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene an...	Alternaria alternata	966	966	100%	0.0	100.00%	545	QQ591979.1
☒	Alternaria alternata voucher GLEF23 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene an...	Alternaria alternata	966	966	100%	0.0	100.00%	547	QQ591954.1

23. ábra: Az 5. izolátum ITS szekvenciájának azonosításának eredménye az NCBI honlapján
(Forrás: NCBI)

Job Title: Nucleotide Sequence

RID: [GA4WWXFB013](#) Search expires on 10-09 19:12 pm [Download All](#) ▼

Program: BLASTN [Citation](#) ▼

Database: nt [See details](#) ▼

Query ID: lcl|Query_7764261

Description: None

Molecule type: dna

Query Length: 686

Other reports: [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear ☐ exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download ▼ Select columns ▼ Show 100 ▼ [?](#)

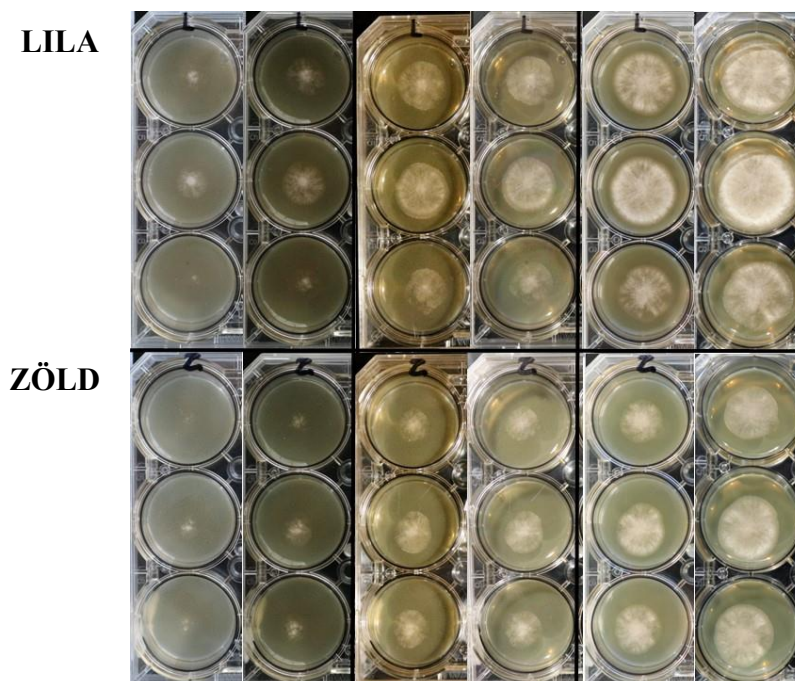
☒ select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒	Botrytis cinerea isolate 1 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal...	Botrytis cinerea	1018	1189	99%	0.0	96.75%	611	QQ625843.1
☒	Botrytis cinerea isolate HYS2021 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and...	Botrytis cinerea	1000	1270	99%	0.0	98.25%	586	OL449703.2
☒	Botrytis cinerea isolate EN41 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and int...	Botrytis cinerea	976	1137	98%	0.0	97.39%	576	PP338061.1
☒	Botrytis cinerea isolate 2 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal...	Botrytis cinerea	963	1130	99%	0.0	97.85%	560	QQ625844.1

4.3. Botritisz növekedési ütemének vizsgálata

A tárolás során egy paprika fertőzési folyamatát nemcsak a kórokozó, hanem a növény tulajdonságai is befolyásolják. A különböző típusú paprikák eltérő beltartalmi értékekkel rendelkeznek, melyek következtében egyes paprikák érzékenyebbek, míg mások ellenállóbbak ugyanazzal a fertőzéssel szemben. A paprikák antimikrobiális hatásának tesztelése sokféleképpen lehetséges, jelen esetben azt a módszert választottam, hogy a paprikákból kivonatot készítettem, melyet PDA táptalajhoz adtunk. A kivonatokat is tartalmazó táptalajokra patogén gombát oltottam és megvizsgáltam azt, hogy a táptalajhoz adott kivonat milyen mértékben befolyásolja az adott gomba növekedésének ütemét. A kivonatok készítéséhez közel izogén lila-, illetve zöld cseresznye paprikák terméseit használtam fel. Az így elkészült különböző PDA táptalajokra az előzőekben azonosított patogének közül az 5. izolátumot, vagyis *B. cinerea*-t oltottam foltban (5 µl) (24. ábra). A növekvő telep átmérőjét öt időpontban mértem, és összehasonlítottam a kontroll táptalajjal (Mellékletek/2. táblázat).

24. ábra: A *Botrytis* növekedése a lila és zöld paprika szűrletével készült táptalajokon (Forrás: saját fotó)



Az 1. táblázatban szemléltettem az átlagokat a szórásokkal együtt. Utána betűkkel jelöltem, hogy ezek az átlagok szignifikánsan eltérnek-e egy adott időpontban vagy nem, azonos betűkkel jelölt számok nem térnek el egymástól, a többi igen $p < 0,05$ szinten. A lila cseresznyepaprika kivonatával dúsított táptalajon tapasztaltam a legnagyobb mértékű szórást, és a kontrollon a legkisebbet.

Az első mért időpontban (36 óra elteltével) a három táptalajon tapasztalt növekedési ütem között nem volt szignifikáns különbség. Ugyanakkor a 43. órától kezdve mindegyik táptalajon felvételezett *B. cinerea* telepátmérő szignifikánsan különbözött a többitől. Ettől az időponttól végig megegyezett a telep méretek sorrendje, legkisebb volt a telep méret a zöld cseresznyepaprika kivonatával készült táptalajon, közepes volt a lila paprika kivonattal dúsított, és legnagyobb a kontrollon.

A második időpontban mért *B. cinerea* telepátmérők a következők szerint alakultak, a kontrollon 1,63 cm, a lila cseresznyepaprika kivonattal dúsított táptalajon már csak 1,30 cm, míg a zöld cseresznyepaprika steril szűrletével hígított táptalajon mindössze 1,03 cm átmérőjű telep fejlődött ki. A 62. órára a kontroll táptalaj teljes átmérőjét benőtte a botritisz, ugyanakkor a zöld cseresznyepaprika kivonatot tartalmazó táptalajon a telepátmérő közel másfél centiméterrel kisebb volt. Ugyanebben az időpontban a lila paprika kivonatos táptalajon

felvételezett botritisz telep átmérője szintén szignifikánsan eltért a kontroll táptalajon tapasztalt átmérőtől, ugyanakkor csak 0,75 cm-rel volt nála kisebb.

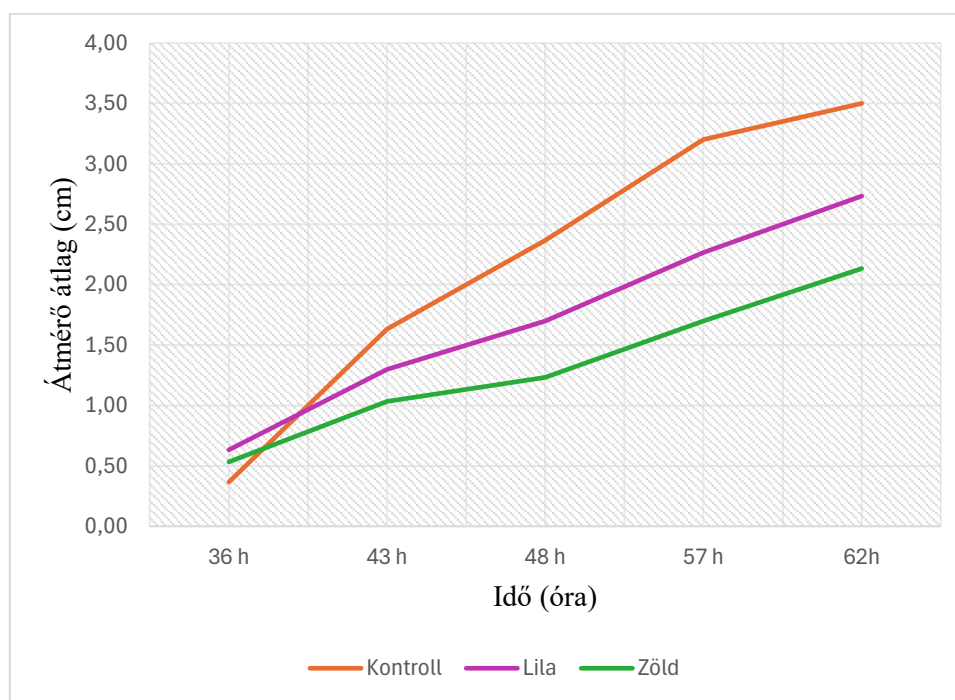
Összességében látható, hogy a cseresznyepaprikák steril szűrletével kihígított táptalajokon lassabb ütemben nőtt a botritisz, mint a kontroll táptalajon, de a lila paprikák gátló hatása elmaradt a zöld paprikáétól.

1. táblázat: Átlag és szórás értékek a különböző táptalajoknál (Forrás: saját adatok)

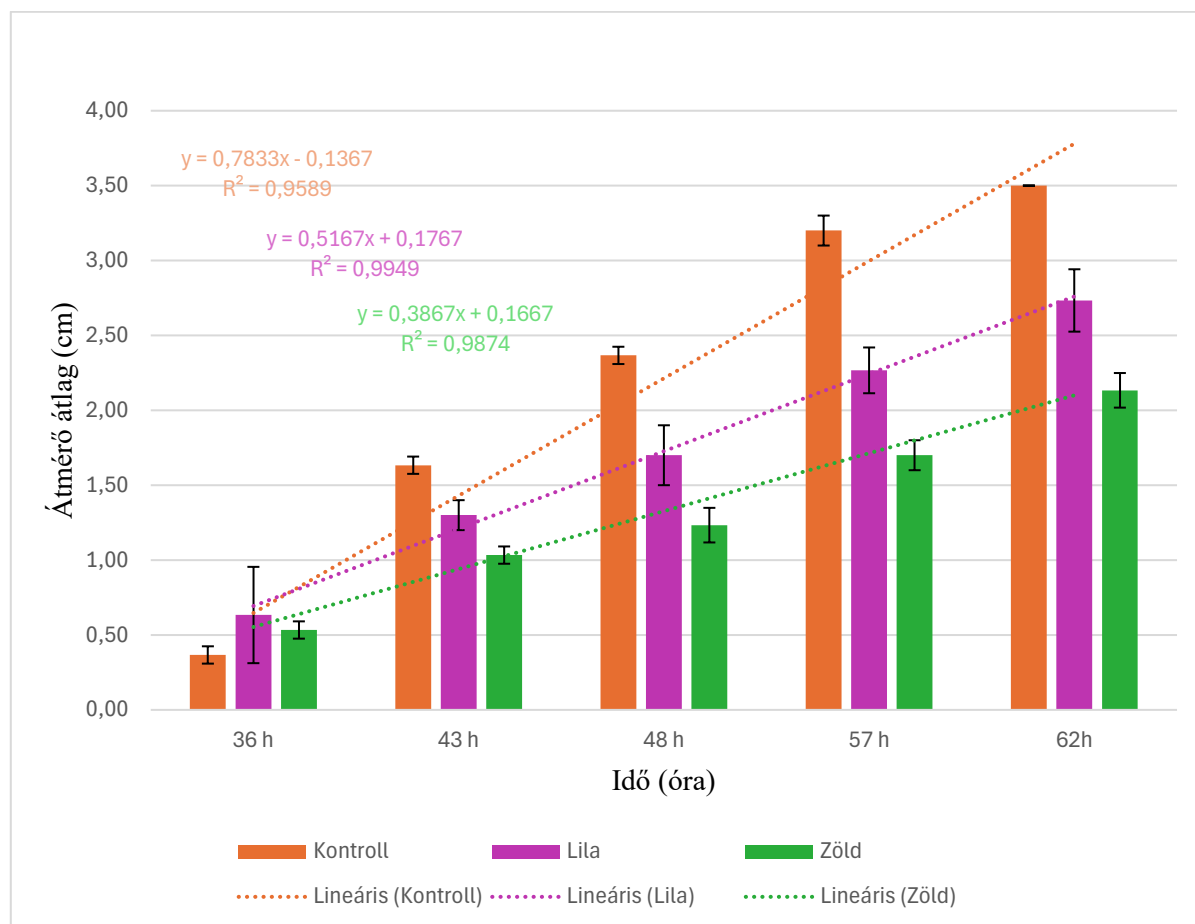
	36 h	43 h	48 h	57 h	62 h
Kontroll	0,37±0,03a	1,63±0,03a	2,37±0,03a	3,20±0,05a	3,50±0,00a
Lila	0,63±0,16a	1,30±0,05b	1,70±0,10b	2,27±0,08b	2,73±0,11b
Zöld	0,53±0,03a	1,03±0,03c	1,23±0,06c	1,70±0,05c	2,13±0,06c

Az egyszerűbb átláthatóság kedvéért az átlag- és szórásértékeket vonal- és oszlopdiagramon is ábrázoltam (25. és 26. ábra). Az ábrákról leolvasható, hogy a három különböző táptalajra kioltott azonos spóraszámra beállított *B. cinerea* telepátmérője hogyan változik mind az eltelt idő, mind pedig a táptalajok függvényében.

25. ábra: Átlagértékek változása (Forrás: saját szerkesztés)



26. ábra: Átlagértékek összehasonlítása adott időpontban, és a szórás ábrázolása (Forrás: saját szerkesztés)



Több tanulmányban (Bassolino et al., 2013; Jian et al., 2023) is igazolták az antociános paradicsombogyó botritisszel történő fertőzésének eredményeként, hogy a magasabb antocián tartalom erősebb gátló hatást váltott ki a kórokozóval szemben, akár genetikailag módosított paradicsomot, akár természetes mutánszt vizsgáltak. Így feltételezhettem, hogy ha in vitro körülmények között a lila paprikából kinyert lével megnövelem a táptalaj antocián tartalmát, az ugyanúgy tudja majd gátolni a ráoltott botritisz növekedését.

Zhang és munkatársai (2013) által végzett kísérletben, amelyben lila és piros paradicsom levét használták fel táptalajkészítéshez, majd ezt beoltották botritisz izolátummal, azt tapasztalták, hogy a kétféle paradicsomlé nem volt hatással a gomba növekedésére, a kontrolhoz képest. A különböző színű bogyók fertőzésekor, viszont a lila termésnél egyértelműen gátlódott a botritisz növekedése a pirossal szemben. Tehát szerintük az antociánok nem közvetlenül gátolják a kórokozó növekedését, azaz az ellenállóság kialakulásához élő gazdasejtre van szükség. Lin és munkatársai (2021) viszont azt tapasztalták,

hogy a közönséges narancs exogén antociános kezelése gátolni tudta a narancs az egyik tárolási betegségének fejlődését.

Ettől kicsit eltérő eredményre jutottak Zhang és munkatársai is (2015), akik egy vad típusú növény ('MicroTom'), egy *Del/Ros1* géneket túltermelő 'MicroTom' háttérű paradicsom, illetve egy termésspecifikus promóterrel ellátott *AtMYB12* gént túltermelő 'MicroTom', és az *AtMYB12* és *Del/Ros1* géneket túltermelő növények keresztezésével előállított 'Indigo' paradicsomok kivonatait vizsgálták. Mind a *Del/Ros1* paradicsom, mind pedig a szintén antociános 'Indigo' paradicsom kivonatokon nevelt *B. cinerea* szuszpenzió kisebb léziókat tudott csak kialakítani a fertőzött terméseken, mint akár a vad típusú, akár az *AtMYB12* túltermelő paradicsom kivonatával dúsított táptalajon nevelt *B. cinerea*.

Az általam végzett kísérletben szintén volt a kivonatok hatásában eltérés. A kontrollhoz képest a paprikakivonatos táptalajoknak volt gátló hatása a botritisz kórokozóval szemben, viszont az antociános paprika ilyen módon történő felhasználásával nem tudta kifejtetni az esetleges pozitív gátló hatását az antociánmentes paprikához képest, mivel a zöld paprika kivonatos táptalajon tapasztaltam a legkisebb mértékű növekedést, és a kontroll táptalajon a legnagyobbat, a lilán pedig közepeset. Valószínűsíthető, hogy a patogének gátlását eredményező összes antioxidáns tartalom magasabb volt a zöld paprikában. Ugyanis ehhez a szembetűnő lila színt eredményező antociánokon kívül egyéb polifenolos vegyületek is hozzájárulnak.

5. Következtetések, javaslatok

Friss fogyasztásra kerülő zöldség- és gyümölcsfajoknál nagy problémát jelent a betakarítás után jelentkező tárolási veszteség, ami a minőségromlásból és a tárolási betegségek kialakulásából adódik. Szakdolgozatomban a viszonylag rövid tárolhatósági idővel rendelkező paprikát vizsgáltam.

Üzletben vásárolt romlásnak indult paprikákról sikerült izolálnom a paprika leggyakoribb tárolási kórokozói közé tartozó két gombafajt (*Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*). A *B. cinerea*-ként azonosított 5. izolátummal végzett tesztfertőzés eredményeként, a paprikán és a paradicsomon megjelenő fenotípusos tünetek megfeleltek a botritisz fertőzés tüneteinek.

Paradicsomnál rendelkezésre állnak olyan irodalmi adatok, miszerint az antociános termések pultontarthatósági ideje hosszabb, akár meg is duplázódhat, és ellenállóbbak a tárolási betegségekkel szemben is (Bassolino et al., 2013; Zhang et al., 2013). Az antocián tartalom antimikrobiális hatását már más termesztett növényeknél (alma, burgonya, mangó) is igazolták egyes kórokozókkal szemben (Flachowsky et al., 2010; Lei et al., 2018; Sivankalyani et al., 2016).

Mivel a paprika és a paradicsom egy családba tartozik, feltételeztem, hogy az antociánok pozitív hatása lila paprika esetében is érvényesülhet valamilyen formában. Paprikánál kevesebb ilyen irányú kísérlet volt eddig, mint paradicsomnál, pedig egyre több lila paprika jelenik meg a piacon, amelyek több fajtátípusba tartozhatnak (cseresznyepaprika, kaliforniai, tölteni való).

Szakdolgozatomban vizsgáltam, hogy in vitro körülmények között van-e különbség az antociános és antociánmentes cseresznyepaprika nemesítési vonalak között. Erre azt a módszert választottam, hogy a kétféle cseresznyepaprikából kinyert levet használtam fel táptalaj készítéséhez, amit beoltottam botritisz izolátummal, amelyet egy üzletben vásárolt paprikáról izoláltam. Eredményként azt tapasztaltam, hogy az antimikrobiális hatás nem csak az antocián jelenlétének köszönhető, mivel a zöld paprika kivonatos táptalajon kevésbé nőtt a gombatelep, mint a lila paprika felhasználásával készített táptalajon. Valószínűsítettem, hogy más irodalmi adatokhoz (Zhang et al., 2015) hasonlóan az összes flavonoid tartalom hozzájárul az antioxidáns hatás kialakításához, amely a zöld cseresznyepaprikánál magasabb lehetett, mint a lila paprikánál. Összességében elmondható, hogy a kétféle paprika erősebb antimikrobiális

hatással rendelkezik a kontroll táptalajhoz képest (ahol a legnagyobb mértékű volt a gombatelep növekedése), mivel gátló hatást tudott kifejteni a *Botrytis cinerea* kórokozóval szemben.

Egy következő kísérletben vizsgálni lehetne, hogy hogyan reagál egy mesterséges fertőzésre a leszedett lila és zöld paprikabogyó, ugyanis paradicsom esetében több kísérlet is igazolta (Bassolino et al., 2013; Zhang et al., 2013), hogy a természetes vagy mesterségesen előállított antociánban gazdag paradicsom, a megnövekedett antioxidáns kapacitásának köszönhetően ellenállóbb a botritisz fertőzéssel szemben és hosszabb eltarthatósági idővel rendelkezik. A különböző antocián tartalmú vonalakat vizsgálva, azt tapasztalták, hogy a botritisz fertőzésre való fogékonyság fordított arányban áll a bogyók antocián tartalmával.

A továbbiakban más lila színű paprika fajtatípusokat is lehetne vizsgálni táptalajkísérlettel és a bogyók mesterséges fertőzésével is, illetve a más növény esetében már bevált (Lin et al., 2021) antocián tartalmú kivonatok hatását elemezni paprikabogyó felületi kezelésekor. Feltételezhetően más eredményeket kapnánk egy fehér és lila tölteni való paprika összehasonlításakor, mint amit a zöld és lila cseresznyepaprikánál kaptam.

A nemesítés során a termékek antocián tartalmának növelése gazdaságos és környezetkímélő módja lehet egyes kórokozók elleni védelemnek, és a tárolhatósági idő növelésének. Ezzel is vissza lehetne szorítani a fungicidek használatát, vagy egyéb természetes, ugyanakkor költséges kezelések alkalmazását.

6. Összefoglalás

A növekvő növénytermesztési költségek miatt minden olyan új módszerrel, felhasznált anyaggal, eszközzel érdemes foglalkozni, amelyek növelhetik a bevételt, illetve csökkenthetik a veszteségeket. A nemesítési módszerek is rejthetnek ilyen lehetőségeket. Mivel a paprika a nehezebben tárolható zöldségnövények közé sorolható, a fajták között előnyt jelent, amelyik hosszabb pultontarthatósági idővel rendelkezik, esetleg ellenállóbb a tárolási betegségekkel szemben, bár ez általában a nemesítésnek nem tartozik az elsődleges céljai közé.

Szakdolgozatomban vizsgáltam, hogy egy antociános paprika nemesítési vonal hogyan viselkedik egy tárolási kórokozóval (*Botrytis cinerea*) szemben in vitro körülmények között. Ehhez üzletben vásárolt, romlásnak indult paprikáról izoláltam tárolási betegséget okozó kórokozókat. A romló foltokból táptalajon tiszta kultúrát hoztam létre többszöri átoltással. A növekvő tenyészetekből a megfelelő protokollok alapján DNS-t vontam ki, amelyekkel PCR-t indítottam.

A kórokozók izolátumaival tesztfertőzést is végeztem, hogy lássam a fenotípusos megjelenésüket. A paprika darabokat megszártam, majd beoltottam és több napon keresztül figyeltem a változást, a növekvő gombatelepeket. Botritisz izolátummal paradicsom bogyót is fertőztem. Gélelektroforézis során kapott fragmentumokat kivágtam a gélből és visszatisztítottam. A kinyert DNS-t megszekvenáltattam, ennek során két tárolási kórokozót azonosítottak (*Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*).

Paradicsomnál több kísérletben is vizsgálták az antociános lila színű paradicsomok pulton tarthatóságát és ellenállóságát tárolási betegségekkel szemben. Azt tapasztalták, hogy az antociántartalom antioxidáns hatásának köszönhetően növeli az eltarthatóságot, és ellenállóságot eredményez egyes kórokozókkal szemben (Bassolino et al., 2013; Zhang et al., 2013). Mivel a paprika és a paradicsom egy családba tartozik, ezért vizsgáltam, hogy a lila paprika rendelkezik-e hasonló pozitív tulajdonsággal.

Egy zöld és egy lila cseresznyepaprika felhasználásával táptalajt készítettem, ezeket beoltottam botritisz izolátummal, és több időpontban mértem a gombatelep átmérőjét. Paradicsomnál nem tapasztaltak különbséget a lila és piros termés levélvel készített táptalajon növekedő botritisz telep méretében (Zhang et al., 2013). Én ezzel szemben paprikánál eltérő eredményeket kaptam a táptalajok között. A paprika kivonattal készült táptalajoknak volt gátló hatása a botrisszel szemben a kontroll táptalajhoz képest, azonban a várttal ellentétben a

legkisebb növekedést a zöld-, közepeset a lila paprika kivonatos táptalajon kaptam, a kontroll táptalajon tapasztaltam a legnagyobb növekedést. Ennek az lehet a magyarázata, hogy a teljes antioxidáns kapacitás kialakításában az antociánokon kívül egyéb polifenolos vegyületek is részt vehettek.

A lila paradicsomok pozitív eredményei indokolják, hogy a lila paprikának is több figyelem jusson. Érdekes lenne tárolási kísérleteket beállítani vagy más típusú lila paprikát is tesztelni. Nagy előnyt jelentene, ha beigazolódna a paradicsomhoz hasonló pozitív hatás, ezzel csökkenteni lehetne a veszteségeket a tárolás során, és esetlegesen kevesebb vegyszer kerülne felhasználásra. Ezenkívül a lila paprika magasabb antioxidáns tartalma táplálkozás élettani szempontból is vonzó lehet a fogyasztók számára.

7. Irodalomjegyzék

- Afam-Ezeaku, C., Oledibe, O., Ejimofor, C.F. (2021): Influence of Different Storage Conditions on the Postharvest Microbial Spoilage of Green-Pepper. *Asian Journal of Research in Botany*, 6(3): 1-10
- Alappat, B., Alappat, J. (2020): Anthocyanin Pigments: Beyond Aesthetics. *Molecules*, 2020. 25(23): 5500.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., Lipman, D.J. (1990): Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215: 403-410.p.
- Aza-Gonzalez, C., Herrera-Isidró, L., Núñez-Palenius, H.G., De La Vega, O., Ochoa-Alejo, N. (2013): Anthocyanin accumulation and expression analysis of biosynthesis-related genes during Chili pepper fruit development. *Biol. Plant.* 2013, 57. 49-55.p.
- Bahnasawy, A.H., Khater, E.G., Ali, S.A., Baky, H.M.A. (2018): Effect of storage conditions on the quality and shelf life of the pepper fruits. 4th International Conference on Biotechnology Applications in Agriculture (ICBAA), Behna University, Moshtohor and Hurghada, 4-7 April 2018, Egypt
- Banaras, M., Bosland, P.W., Lownds, N.K. (2005): Effects of harvest time and growth conditions on storage and post-storage quality of fresh peppers (*Capsicum annuum* L.). *Pak.J. Bot.* 37: 337-344.
- Bassolino, L., Zhang, Y., Schoonbeek, H.J., Kiferle, C., Perata, P., Martin, C. (2013): Accumulation of anthocyanins in tomato skin extends shelf life. *New Phytol.* 200(3): 650-655. DOI: 10.1111/nph.12524
- Cisowska, A., Wojnicz, D., Hendrich, A. (2011): Anthocyanins as Antimicrobial Agents of Natural Plant Origin. *Natl. Product Commun.* 6: 149-156.p.
- Cote, J., Caillet, S., Doyon, G., Dussault, D., Sylvan, J.F., Lacroix, M. (2011): Antimicrobial effect of cranberry juice and extracts. *Food Control.* 22: 1413-1418.p.
- Daskalov, S., Poulos, J. (1994): Updated *Capsicum* gene list. *Capsicum and Eggplant Newsletter* 13,15-26.p.

- De Candolle, A. (1894): Termesztett növényeink eredete. Természettudományi Társaság, Budapest, Kézirat
- Deli, J. (2001): Paprikakarotinoidok vizsgálata: analízis, izolálás, szerkezetazonosítás. Pécsi Tudományegyetem ÁOK. Akadémiai doktori értekezés.
- Fallik, E., Grinberg, S., Alkalai, S., Lurie, S. (1996): The effectiveness of postharvest hot water dipping on the control of grey and black moulds in sweet red pepper (*Capsicum annuum*). Plant Pathology. 45: 644-649.p. DOI: 10.1046/j.1365-3059
- Flachowsky, H., Szankowski, I., Fischer, T.C., Richter, K., Peil, A., Höfer, M., Dörschel, C., Schmoock, S., Gau, A.E., Halbwirth, H. (2010): Transgenic apple plants overexpressing the Lc gene of maize show an altered growth habit and increased resistance to apple scab and fire blight. Planta 231: 623-635.p.
- Glits, M., Folk, Gy. (2000): Kertészeti növénykórtan. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- González-Aguilar, G.A. (2016): Pepper. In: Gross, K.C., Wang, C.Y., Saltveit, M. (szerk.): The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks. Agricultural Research Service, Agriculture Handbook Number 66, United States Department of Agriculture, 481-484.p.
- Gonzali, S., Mazzucato, A., Perata, P. (2009): Purple as a tomato: towards high anthocyanin tomatoes. Trends in plant science, 14, 237-241.p.
- Hajtun, Gy. (2018): A paprikanemesítést nem lehet abbahagyni (Zatykó portré). Vetőmag, XXV. (1.): 5-7.p.
- Jian, W., Ou, X., Sun, L., Chen, Y., Liu, S., Lu, W., Yang, X., Zhao, Z., Li, Z. (2023): Characterization of anthocyanin accumulation, nutritional properties, and postharvest attributes of transgenic purple tomato. Food Chemistry Vol. 408, 135181.
- Kerek, M. (2018): A fajtaválasztás szerepe a paprikatermesztésben. FruitVeb Magazin, Zöldség-Gyümölcs Piac és Technológia, 2018.11.26.
- Khater, E.S.G., Afify, M.T. (2021): Quality characteristics and shelf life of pepper fruits as influenced by storage conditions and pepper varieties. Misr Journal of Agricultural Engineering, 38(4).

- Kovács, Zs. (2023): Antociánosodó paprika genotípusok összehasonlító analitikai és genetikai vizsgálata az érés során. Doktori értekezés, MATE, Gödöllő.
- Lantos, F. (szerk.) (2018): *Capsicum* genus „A paprikafajok eredete”. Szentes Városért Közalapítvány, Duna-R Vetőmag Kft., Szentes
- Ledóné, D.H. (2020): Nemesítés és fajtahasználat, zöldségfajták nemesítése, a paprika. Szegedi Tudományegyetem, jegyzet, Szeged, 10p.
- Ledóné, D.H. (2021): Zöldségfajok növényházi technológiája, A hajtított paprika áruvá készítése. Szegedi Tudományegyetem, Olvasólecke, 11p.
- Lei, K.J., Zhang, L., Du, X.Y., An, Y., Chang, G.H., An, G.Y. (2018): A chalcone synthase controls the verticillium disease resistance response in both *Arabidopsis thaliana* and cotton. *European Journal of Plant Pathology* 152: 769-781.p.
- Leon, J.J., Elias, J.L., Huez Lopez, M.A., Garcia Lopez, A.M., Ortiz, R.S., Escoboza Garcia, L.F. (2013): Postharvest quality and shelf life of green pepper (*Capsicum annuum* L.) grown under open-field and greenhouse conditions. *IDESA (Chile)* 3(4): 35-41.
- Li, Z., Wang, S., Gui, X.L., Chang, X.B., Gong, Z.H. (2013): A further analysis of the relationship between yellow ripe-fruit colour and the capsanthin-capsorubin synthase gene in pepper (*Capsicum* sp.) indicated a new mutant variant in *C. annuum* and a tandem repeat structure in promoter region. *PloS ONE* 2013, 8, e61996.
- Lin, Y., Fan, L., He, J., Wang, Z., Yin, Y., Cheng, Y., Li, Z. (2021): Anthocyanins contribute to fruit defense against postharvest green mold. *Postharvest Biology and Technology*, Volume 181, 111661
- Liu, Y., Tikunov, Y., Schouten, R.E., Marcelis, L.F., Visser, R.G., Bovy, A. (2018): Anthocyanin Biosynthesis and Degradation Mechanisms in *Solanaceous* Vegetables: A Review. *Frontiers in Chemistry*, Vol.6, 52.
- Luning, P.A., Devries, R.V., Yuksel, D., Ebbenhorstseller, T., Wichers, H.J., Roozen, J.P. (1994): Combined instrumental and sensory evaluation of flavor of fresh bell peppers (*Capsicum annuum*) harvested at 3 maturation stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42: 2855-2861.p. DOI: 10.1021/jf00048a038

- Meng, Y., Zhang, H., Fan, Y., Yan, L. (2022): Anthocyanins accumulation analysis of correlated genes by metabolome and transcriptome in green and purple peppers (*Capsicum annuum*). BMC Plant Biology, 22:358.
- Mes, P.J., Boches, P., Myers, J.R., Durst, R. (2008): Characterization of tomatoes expressing anthocyanin in the fruit. Journal of the American Society for Horticultural Science, 133: 262-269.p.
- Miller, W.R., Risse, L.A. (1986): Film wrapping to alleviate chilling injury of bell peppers during cold storage. HortScience 21(3): 467-468.p.
- Nagy, J. (1977): Konténeres paprikatermesztés újabb eredményei és a fejlesztés iránya. Hajtatás, korai termesztés, 8 (2):14-17. p.
- O'Donoghue, E.M., Brummell, D.A., McKenzie, M.J., Hunter, D.A., Lill, R.E. (2017): Sweet capsicum: postharvest physiology and technologies. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, Vol.46. 269-297.p.
- O'Neill, T., Mayne, S. (2015): Pepper fruit rots. Agriculture and Horticulture Development Board (AHDB), Horticultural Development Company, Factsheet 05/15.
- Orbán, Cs., Füstös, Zs., Gilinger, M. P. (2011): Changes in quality of sweet pepper types during the post-harvest ripening. Journal on Processing and Energy in Agriculture, 15 (2):109-112. p
- Paran, I., van deer Knaap, E. (2007): Genetic and molecular regulation of fruit and plant domestication traits in tomato and pepper. Journal of Experimental Botany. 58: 3841-3852. DOI: 10.1093/jxb/erm257
- Petric, T., Kiferle, C., Perata, P., Gonzali, S. (2018): Optimizing shelf life conditions for anthocyanin-rich tomatoes. PLoS ONE 13(10): e0205650
- Pojer, E., Mattivi, F., Johnson, D., Stockley, C.S. (2013): The Case for Anthocyanin Consumption to Promote Human Health: A Review. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 12: 483-508.p.
- Sivankalyani, V., Feygenberg, O., Diskin, S., Wright, B., Alkan, N. (2016): Increased anthocyanin and flavonoids in mango fruit peel are associated with cold and pathogen resistance. Postharvest Biology and Technology 111: 132-139.p.

- Somos, A. (1981): A paprika. Akadémiai Kiadó, Budapest, 395p.
- Stommel, J.R., Griesbach, R.J. (2008): Inheritance of fruit, foliar, and plant habit attributes in *Capsicum*. Journal of the American Society for Horticultural Science, 133., 396-407.p.
- Terbe, I., Slezák, K., Némethyné, U. H., Kósásné, M. Á. (2001): Kiváló C-vitamin forrás a paprika. A SZIE Zöldségtermesztési Tanszék kutatási eredményeinek összefoglalása 21-25.p.
- Tiamiyu, Q.O., Adebayo, S.E., Ibrahim, N. (2023): Recent advances on postharvest technologies of bell pepper: A review. Heliyon, Volume 9, Issue 4, e15302
- Tsegay, D., Tesfaye, B., Mohammed, A., Yirga, H., Bayleyegn, A. (2013): Effects of harvesting stage and storage duration on postharvest quality and shelf life of sweet bell pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties under passive refrigeration system. Global Journal of Cellular and Molecular Biology, Vol. 1(1), 027-033p.
- Wall, M.M., Biles, C.L. (1993): Alternaria fruit rot of ripening Chile peppers. Phytopathology, 83(3): 324-328.p.
- Wang, L., Hu, J., Li, D., Reymick, O.O., Tan, X., Tao, N. (2022): Isolation and control of *Botrytis cinerea* in postharvest green pepper fruit. Scientia Horticulturae, Vol. 302. DOI: 10.1016/j.scientia. 2022.111159
- Wegener, C.B., Jansen, G. (2007): Soft-rot Resistance of Coloured Potato Cultivars (*Solanum tuberosum* L.): The Role of Anthocyanins. Potato Research 50: 31-44.p.
- Yousuf, B., Gul, K., Wani, A., Singh, P. (2016): Health Benefits of Anthocyanins and Their Encapsulation for Potential Use in Food Systems: A Review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Vol.56, Issue13, 2223-2230.p.
- Zatykó, L. (1994): Étkezési paprika. In: Balázs, S. (szerk): Zöldségtermesztők kézikönyve. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 226-255.p.
- Zatykó, L. (2000): Paprika. In: Balázs, S. (szerk.): A zöldségfajtatás kézikönyve. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 195-243.p.
- Zhang, Y., Butelli, E., De Stefano, R., Schoonbeek, H-J., Magusin, A., Pagliarini, C., Wellner, N., Hill, L., Orzaez, D., Granell, A., Jones, J., Martin, C. (2013): Anthocyanins double

the shelf life of tomatoes by delaying overripening and reducing susceptibility to gray mold. Curr Biol. 23(12): 1094-100. DOI: 10.1016/j.cub.2013.04.072

Zhang, Y., De Stefano, R., Robine, M., Butelli, E., Bulling, K., Hill, L., Rejzek, M., Martin, C., Schoonbeek, H-J. (2015): Different Reactive Oxygen Species Scavenging Properties of Flavonoids Determine Their Abilities to Extend the Shelf Life of Tomato. Plant Physiology, Vol. 169, 1568-1583.p.

Zsom, T. (2007): Az étkezési paprika minőségváltozása a szedés utáni időszak alatt. Doktori értekezés, Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Budapest

http1: https://www.ksh.hu/stadat_files/jov/hu/jov0051.html

http2: Gilingerné Pankotai M., Komsa I., Füstös Zs. (2007): A paprika táplálkozási értékei, minőségének megőrzése a tárolás során. Magyar Táplálkozástudományi Társaság.

Letöltés dátuma: 2024.08.05. forrás:

https://www.doki.net/tarsasag/taplalkozas/upload/taplalkozas/document/7_pankotai_fustos_paprika_tarolasa.pdf?web_id=

http3: Lichthammer A.: A paprika (*Capsicum annuum*) táplálkozás élettani vonatkozásai és helye az egészséges táplálkozásban. Magyar Táplálkozástudományi Társaság. Letöltés dátuma: 2024.08.06. forrás:

https://www.doki.net/tarsasag/taplalkozas/upload/taplalkozas/document/6_lichthammer_paprika_taperteke.pdf?web_id=

http4: <https://www.istockphoto.com/hu/fot%C3%B3/a-sz%C3%BCrke-pen%C3%A9sz-k%C3%B6zelk%C3%A9pe-egy-vil%C3%A1gos-piros-paprika-feh%C3%A9r-h%C3%A1tt%C3%A9r-gm1200880746-344137481>

http5: <https://projectblue.blob.core.windows.net/media/Default/Horticulture/Publications/Pepper%20fruit%20rots.pdf>

http6: https://issuu.com/horizontmedia/docs/mez_h_r_2022._okt_ber/s/17016297

http7: <https://www.growingproduce.com/vegetables/more-vegetables/take-hard-line-bacterial-soft-rot-pepper/>

8. Ábrák és táblázatok jegyzéke

1. ábra: <i>Botrytis cinerea</i> fertőzés paprika termésen (http4)	11. oldal
2. ábra: Fuzáriumos penészedés paprika termésen (http5)	12. oldal
3. ábra: <i>Alternaria alternata</i> fertőzés paprika termésen (http6)	12. oldal
4. ábra: Baktériumos lágyrothadás paprika termésen (http7)	13. oldal
5. ábra: Különböző gombás fertőzés tüneteit mutató kereskedelmi forgalomban kapható paprikák, melyekről a kórokozókat izoláltam (Forrás: saját fotó)	17. oldal
6. ábra: BioRad Thermal Cycler típusú PCR gép (Forrás: saját fotó)	20. oldal
7. ábra: A PCR termékek elválasztása agaróz gélelektroforézissel (Forrás: saját fotó)	21. oldal
8. ábra: UV fény alatt jól látható DNS fragmentumok (Forrás: saját fotó)	22. oldal
9. ábra: A paprikakivonatok elkészítéséhez felhasznált lila és zöld cseresznyepaprikák (Forrás: saját fotó)	23. oldal
10. ábra: Kórokozó izolálása a paprikáról (Forrás: saját fotó)	24. oldal
11. ábra: A PDA táptalajon felnövekedett gombatelepek (Forrás: saját fotó)	24. oldal
12. ábra: 1.2 izolátum tiszta tenyészet, 48 óra elteltével, PDA táptalajon (Forrás: saját fotó)	24. oldal
13. ábra: 1.2 izolátummal végzett tesztfertőzés eredménye hét nap alatt (dpi: days post-infection, a fertőzéstől eltelt napok száma) (Forrás: saját fotó)	25. oldal
14. ábra: Kórokozó izolálása a paprikáról, tiszta tenyészet létrehozása (Forrás: saját fotó)	26. oldal
15. ábra: Közvetlen kioltás a paprikáról, RBC (rose-bengal) táptalajon (Forrás: saját fotó)	26. oldal
16. ábra: 5. izolátum tiszta tenyészet 48 óra elteltével PDA táptalajon (Forrás: saját fotó)	26. oldal

17. ábra: 5. izolátummal végzett tesztfertőzés eredménye hét nap alatt (Forrás: saját fotó) 27. oldal
18. ábra: 5. izolátummal végzett tesztfertőzés paradicsomon (Forrás: saját fotó) 27. oldal
19. ábra: ITS1 és ITS4 primerrel végzett PCR, első nyíl a létra (M: Thermo Scientific GeneRuler 100bp), második nyíl az 1.2 izolátum, harmadik nyíl az 5. izolátum (Forrás: saját fotó) 28. oldal
20. ábra: Az 1.2 izolátum szekvencia elektroferogramja 200-500 bp között (Forrás: BIOMI Kft.) 28. oldal
21. ábra: Az 5. izolátum szekvencia elektroferogramja 200-400 bp között (Forrás: BIOMI Kft.) 29. oldal
22. ábra: Az 1.2 izolátum ITS szekvenciájának azonosításának eredménye az NCBI honlapján (Forrás: NCBI) 29. oldal
23. ábra: Az 5. izolátum ITS szekvenciájának azonosításának eredménye az NCBI honlapján (Forrás: NCBI) 30. oldal
24. ábra: A *Botrytis* növekedése a lila és zöld paprika szűrletével készült táptalajokon (Forrás: saját fotó) 31. oldal
25. ábra: Átlagértékek változása (Forrás: saját szerkesztés) 32. oldal
26. ábra: Átlagértékek összehasonlítása adott időpontban, és a szórás ábrázolása (Forrás: saját szerkesztés) 33. oldal
1. táblázat: Átlag és szórás értékek a különböző táptalajoknál (Forrás: saját adatok) 32. oldal
2. táblázat: A botritisz növekedése kontroll, lila-, és zöld paprika kivonatos táptalajon, a telep átmérője cm-ben kifejezve (Forrás: saját adatok) 47. oldal

9. Mellékletek

2. táblázat: A botritisz növekedése kontroll, lila-, és zöld paprika kivonatos táptalajon, a telep átmérője cm-ben kifejezve (Forrás: saját adatok)

minta	36 h	43 h	48 h	57 h	62 h
Kontroll	0,4	1,6	2,3	3,1	3,5
Kontroll	0,3	1,7	2,4	3,3	3,5
Kontroll	0,4	1,6	2,4	3,2	3,5
Lila	0,4	1,2	1,7	2,3	2,8
Lila	1	1,3	1,9	2,4	2,9
Lila	0,5	1,4	1,5	2,1	2,5
Zöld	0,5	1	1,1	1,6	2
Zöld	0,5	1	1,3	1,8	2,2
Zöld	0,6	1,1	1,3	1,7	2,2

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani konzulensemnek, Dr. Kovács Zsófia egyetemi adjunktusnak, a szakdolgozatom elkészítéséhez nyújtott segítségéért.

NYILATKOZAT

szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: SZABÓ CSILLA
A Hallgató Neptun kódja: 213224
A dolgozat címe: TÁROLÁSI KÖRÜKÖZŐK HATÁSA AZ ANTOCIÁINOS ÉS ANTOCIÁIN-
MENTES PAPRIKA NEMESÍTÉSI VONALAKRA
A megjelenés éve: 2024
A konzulens intézetének neve: GENETIKA ÉS BIOTECHNOLÓGIA INTÉZET
A konzulens tanszékének a neve: MOLEKULÁRIS GENETIKA ÉS NEMESÍTÉS CSOPORT

Kijelentem, hogy az általam benyújtott szakdolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

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

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

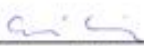
Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem MATER Hallgatói Dolgozatok repozitóriumba. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelte után

nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem MATER Hallgatói Dolgozatok repozitóriumban.

Kelt: GÖDÖLLŐ 2024 év november hó 11 nap


Hallgató aláírása

NYILATKOZAT

Szabó Csilla (név) (hallgató Neptun azonosítója: ZBAZYH) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót¹ áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót a záróvizsgán történő védésre javaslom / nem javaslom².

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem³

Kelt: Gödöllő, 2024. 11. 11.


belső konzulens

¹ A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

² A megfelelő alá húzandó.

³ A megfelelő alá húzandó.