

DIPLOMADOLGOZAT

Tornay Levente

2024



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Budai Campus

Növényvédelmi intézet

Növényorvosi mesterképzési szak

Paradicsomot fertőző *Colletotrichum* izolátumok jellemzése

Belső konzulens: Dr. Tóth Annamária

egyetemi adjunktus

**Belső konzulens
intézete/tanszéke:** Növényvédelmi intézet

Növénykórtani tanszék

Készítette: TORNAY LEVENTE

MATE Budai Campus

2024

Tartalom

1. Bevezetés és célkitűzés	3
2. Irodalmi áttekintés	4
2.1 A paradicsom.....	4
2.2 A paradicsom kórokozói	4
2.3 A <i>Colletotrichum</i> nemzetség	9
2.3.1 A <i>Colletotrichum</i> fajkomplexek közötti különbségek	9
2.4 A paradicsomot fertőző <i>Colletotrichum</i> fajok.....	10
2.5 A <i>Colletotrichum</i> nemzetség rendszertani besorolása	11
2.6 A <i>Colletotrichum</i> nemzetség földrajzi elterjedése	11
2.7 A <i>Colletotrichum</i> nemzetség gazdasági jelentősége	12
2.8 A paradicsomot fertőző <i>Colletotrichum</i> fajok által okozott tünetek	13
2.9 A <i>Colletotrichum</i> fajok biológiája.....	14
2.10 A paradicsomot fertőző <i>Colletotrichum</i> fajok morfológiája és tenyészbélyegei	15
3. Anyag és módszer	20
3.1 A vizsgálat helye és ideje	20
3.2 A vizsgálat anyaga	20
3.2.1 A vizsgált növények	20
3.2.2 Felhasznált eszközök.....	21
3.2.3 Táptalaj és indítószekvenciák.....	21
3.3 A vizsgálat módszere	21
3.3.1 A minták gyűjtése és tárolása.....	21
3.3.2 A tünetek jellemzése	22
3.3.3 A kórokozó izolálása táptalajon, tiszta tenyészetek fenntartása.....	22
3.3.4 Morfológiai vizsgálatok	22
3.3.5 Patogenitási teszt	22

3.3.6 Molekuláris azonosítás	23
4. Eredmények.....	25
4.1 Tünetek.....	25
4.2 Morfológiai tulajdonságok és tenyészbélyegek	26
4.3 Patogenitási teszt	28
4.4 Molekuláris azonosítás.....	29
6. Összefoglalás.....	33
7. Köszönetnyilvánítás	34
8. Irodalomjegyzék.....	35
9. Ábrák és táblázatok jegyzéke	41

1. Bevezetés és célkitűzés

A paradicsom (*Solanum lycopersicum*) az egyik legfontosabb zöldségfaj hazánkban, amely mind a friss fogyasztásra, mind ipari feldolgozásra jelentős gazdasági értéket képvisel. Fontos vitamin és ásványi anyag forrás, legfőbb alkotója a likopin. Emellett C és A vitamint, vasat, folsavat, és káliumot tartalmaz. Rendszeres fogyasztása javítja a látást, csökkenti a vérnyomást és a koleszterin szintet, magas rost tartalma pedig az emésztőrendszerre hat jótékonyan. Magyarországon a palántaneveléssel történő szaporítás a meghatározó jelentőségű. Szabadföldi termesztése során a kiültetésre április vége és május vége között kerül sor.

Termesztése során számos kártevő és kórokozó jelentős károkat okozhat. Az egyik legfontosabb a *Colletotrichum* nemzetségbe tartozó gombák által előidézett antraknózis. Magyarországon a betegség azóta vált jelentőssé, mióta szabad földön a paradicsomot nem folyamatosan, a teljes érettség előtt szedik, hanem egy menetben géppel takarítják be. Ilyenkor sok bogyó már túlrett lesz. A betegséget korábban elsősorban a *Colletotrichum coccodes* fajnak tulajdonították, amely a paradicsom termésén jellegzetes besüppedő, rothadó foltokat képez, jelentős termés kiesést eredményezve.

Az utóbbi években azonban több kutatás is rávilágított arra, hogy nem csupán a *C. coccodes* faj felelős a paradicsom kolletotrichumos tüneteinek kialakulásáért, hanem más, *Colletotrichum* nemzetségbe tartozó fajok is képesek hasonló fertőzést okozni. Ennek következtében a kolletotrichumos betegséget kiváltó patogének pontos meghatározása kulcsfontosságú a hatékony védekezési stratégiák kidolgozása szempontjából, mivel a különböző fajok eltérő biológiával és patogenitással rendelkezhetnek.

A kutatásom célja annak a felmérése és meghatározása molekuláris vizsgálatokkal alátámasztva, hogy a hazai paradicsom termesztésben előforduló kolletotrichumos betegségekért mely *Colletotrichum* fajok felelősek. A vizsgált minták alapján célunk volt azonosítani a jelen lévő kórokozó fajokat, és feltárni azok esetleges eltéréseit a korábban dominánsnak tartott *C. coccodes*-hez képest. Eredményeink hozzájárulhatnak a paradicsom kolletotrichumos betegségeinek pontosabb megértéséhez, valamint a védekezési módszerek optimalizálásához.

2. Irodalmi áttekintés

2.1 A paradicsom

A paradicsom (*Solanum lycopersicum*) napjainkban a legnagyobb mennyiségben és legszélesebb körben termesztett zöldségnövény. Őshazája Dél-Amerika, ahol már az ősi inka törzsek is termesztették, majd később a spanyol hódítók a XVI. században behozták Európába, ahol kezdetben dísnövényként termesztették, mert úgy gondolták mérgező. Később a XVII. században fokozatosan elterjedt termésének fogyasztása (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2013).

Botanikailag a paradicsom a burgonyafélék (*Solanaceae*) családjába tartozik, termése lédús bogyótermés. Gazdasági jelentősége számottevő, hiszen nem csak frissen fogyasztják termését, hanem feldolgozott formában is megtalálhatjuk a boltok polcain sűrítményként, ketchupként vagy konzervként. A világon az éves paradicsomtermelés meghaladja a 180 millió tonnát. Az egyik legnagyobb termelő Kína, majd ezt követően Európa, India és Amerika (FAO, 2023).

A paradicsom tápértéke is számottevő, sok C vitamint tartalmaz, illetve likopint, ami antioxidáns tulajdonságának köszönhetően daganatos, valamint szív és érrendszeri betegségek megelőzésére használható (Rao és Agarwal, 2000).

A termesztése egyaránt folyik szabadföldön és hajtásban is. Mindkét termesztési módnak megvannak a maga kórokozói és kártevői, melyek jelentős gazdasági károkat tudnak okozni. Az előbbieket közé tartoznak a vírusok, baktériumok és a különféle gombás betegségek, mint például a *Colletotrichum* nemzetség tagjai. A károsítók ellen való védekezés nélkülözhetetlen a fenntartható és gazdaságilag hatékony paradicsom termesztés biztosításához.

2.2 A paradicsom kórokozói

A paradicsom (*Solanum lycopersicum*) termesztése során kórokozók megjelenésével kell számolnunk, akár szabadföldön akár üvegházban termesztünk. Ezek jelentős termés kiesést okozhatnak. A kórokozók közé tartoznak a gombák, baktériumok, vírusok, viroidok és fitoplazmák, melyek elterjedése, előfordulása függ a termesztéstechnológiától és a környezeti tényezőktől. Az **1. táblázat**ban mind a hajtattott mind a szabadföldi paradicsom termesztése szempontjából lényeges kórokozók találhatók. Az integrált növényvédelmi rendszerek (IPM) alkalmazása alapvető fontosságú a betegségek ellen való védekezésben és a környezettudatos termesztésben (Jones, 2016).

1. táblázat: A paradicsomot fertőző fontos kórokozók listája

Rendszertan	Kórokozó	Betegség	Hivatkozás
<i>Bunyaviridae</i> <i>Tospovirus</i>	<i>Tomato</i> <i>Spotted Wilt</i> <i>Virus</i>	Paradicsom foltos hervadás vírus	(Qi <i>et al.</i> , 2021)
<i>Virgaviridae</i> <i>Tobamovirus</i>	<i>Tomato</i> <i>Mosaic Virus</i>	Paradicsom mozaik vírus	(Alon <i>et al.</i> , 2021)
<i>Alphafelxiviridae</i> <i>Potexvirus</i>	<i>Pepino Mosaic</i> <i>Virus</i>	Pepino mozaik vírus	(EPPO, 2024)
<i>Bromoviridae</i> <i>Cucumovirus</i> , <i>Virgaviridae</i> <i>Tobamovirus</i>	<i>Cucumber</i> <i>Mosaic Virus</i> , <i>Tomato</i> <i>Mosaic Virus</i>	A paradicsom páfránylevelűsége	(Bujarski <i>et al.</i> , 2019)
<i>Bromoviridae</i> <i>Cucumovirus</i> , <i>Alphaflexiviridae</i> <i>Potexvirus</i> , <i>Virgaviridae</i> <i>Tobamovirus</i>	<i>Cucumber</i> <i>Mosaic Virus</i> , <i>Potato X</i> <i>Virus</i> , <i>Tobacco</i> <i>Mosaic Virus</i>	A paradicsom nekrotikus elhalása	(EPPO, 2024)
<i>Virgaviridae</i> <i>Tobamovirus</i>	<i>Tomato Brown</i> <i>Rugose Fruit</i> <i>Virus</i>	Paradicsom barna termésráncosodás vírus	(Alon <i>et al.</i> , 2021)
<i>Gemiviridae</i> <i>Begomovirus</i>	<i>Tomato Yellow</i> <i>Leaf Curl</i> <i>Virus</i>	Paradicsom sárga levélgöndörödés vírus	(Navas-Castillo <i>et al.</i> , 2000)
<i>Closteroviridae</i> <i>Crinivirus</i>	<i>Tomato</i> <i>Infectious</i> <i>Chlorosis</i> <i>Virus</i>	Paradicsom fertőző klorózis vírus	(Navas-Castillo <i>et al.</i> , 2000)
<i>Acholeplasmataceae</i>	<i>Candidatus</i> <i>Phytoplasma</i> <i>solani</i>	A paradicsom sztolburja	(EPPO, 2024)
<i>Microbacteriaceae</i> <i>Clavibacter</i>	<i>Clavibacter</i> <i>michiganensis</i> <i>subsp.</i> <i>michiganensis</i>	Paradicsom klavibakteres betegsége	(Nandi <i>et al.</i> , 2018)
<i>Pseudomonadaceae</i> <i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i> <i>syringae</i> pv. <i>tomato</i>	A paradicsom pseudomonaszos betegsége	(EPPO, 2024)

<i>Xanthomonadaceae</i> <i>Xanthomonas</i>	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	A paradicsom xanthomonaszos betegsége	(EPPO, 2024)
<i>Oomycota</i> <i>Peronosporaceae</i>	<i>Phytophthora infestans</i>	A paradicsom fitoftórási betegsége	(Index Fungorum, 2024)
<i>Ascomycota</i> <i>Nectriaceae</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	A paradicsom fuzáriumos hervadása	(EPPO, 2024)
<i>Ascomycota</i> <i>Didymellaceae</i>	<i>Didymella lycopersici</i>	A paradicsom didimellás betegsége	(EPPO, 2024)
<i>Ascomycota</i> <i>Pleosporaceae</i>	<i>Alternaria solani</i>	A paradicsom alternáriás betegsége	(Index Fungorum, 2024)
<i>Ascomycota</i> <i>Mycosphaerellaceae</i>	<i>Septoria lycopersici</i>	A paradicsom szeptóriás levélfoltossága	(Index Fungorum, 2024)
<i>Ascomycota</i> <i>Cladosporiaceae</i>	<i>Cladosporium fulvum</i>	A paradicsom kladospóriumos levélfoltossága	(EPPO, 2024)
<i>Ascomycota</i> <i>Glomerellaceae</i>	<i>Colletotrichum</i> spp.	A paradicsom kolletotrichumos betegsége	(EPPO, 2024)
<i>Ascomycota</i> <i>Erysiphaceae</i>	<i>Golovinomyces lycopersici</i> , <i>Erysiphe lycopersici</i> , <i>Leveillula taurica</i>	A paradicsom lisztharmata	(EPPO, 2024)
<i>Ascomycota</i> <i>Sclerotiniaceae</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	A paradicsom botritiszes betegsége	(Index Fungorum, 2024)

A gombás betegségek a paradicsom termesztésben az egyik legnagyobb kihívást jelentik, különösen meleg és párás környezetben, ami a legtöbb növénypatogén gombának optimális a fertőzésre.

Phytophthora infestans

A *Phytophthora infestans*, a burgonyavész kórokozója nem csak a burgonyatermesztést nehezíti, de a paradicsom termesztésben is okoz fejfájást a termesztőknek. A betegség gyorsan

terjed nedves környezetben, és súlyos károkat okoz a növények levelein, szárán és termésein, valamint palántadőlést is okozhat a fiatal növényeknél (Nowicki *et al.*, 2012).

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici*

A paradicsom fuzáriumos hervadása hirtelen hervadást okoz, amely akár növényelhaláshoz is vezethet. A betegség kiterjedt barna gyökérrothadással és vörösesbarna érszöveti elszíneződéssel jár. A növényi maradványokon a talajban marad fenn klamidospórákkal. Az ellenálló fajták és a talaj fertőtlenítése a leghatékonyabb védekezési módszerek (EPPO, 2004).

Didymella lycopersici

A *Didymella lycopersici* a paradicsomon és paprikán okoz károkat, különösen a csírázás előtti és utáni időszakban. A betegség üvegházban különösen jelentős, ahol a szár foltosodása és hervadása a növény pusztulásához vezethet. Különös tekintettel kell lenni az egészséges szaporítóanyagra, mivel a magok hordozhatják a betegséget (Kasselaki *et al.*, 2008).

Alternaria solani

Az alternáriás betegségnek a házikertekben, szabadföldön és hideghajtásban van nagyobb jelentősége, de korszerű üvegházi termesztés során is előfordulhat. Ez a fitopatogén gomba kifejezetten szereti a meleg időjárást, így nyáron, nyár végén a legjellemzőbb. Tüneteit tekintve a növény minden részét fertőzi, minden fenológiai fázisban, a leveleken és terméseken koncentrikus barna, sötétbarna kerek foltok jönnek létre (EPPO, 2004).

Septoria lycopersici

A szeptóriás levélfoltosság gyakran a fentebb említett alternáriás betegséggel együtt fordul elő. A kórokozó a paradicsom levelét fertőzi. A leveleken kis méretű, kezdetben sárguló, majd később barna kerek foltok keletkeznek, amik be is száradnak (Parker *et al.*, 1997).

Cladosporium fulvum

Angol neve „leaf mold” azaz levél penész. Ez a gombafaj leginkább a leveleket fertőzi üvegházi állományban, a növény egyéb részein ritkán fordul elő tünet. A 90% feletti páratartalom és a 18-27 Celsius fok ideális a fejlődéséhez. A levelek súlyos fertőződése esetén termés kieséssel kell számolni (EPPO, 2004).

Colletotrichum spp.

A *Colletotrichum* fajok antraknózist okoznak, amely súlyos gazdasági károkat eredményezhet a szabadföldi paradicsom termesztés során. A leggyakrabban előforduló paradicsomot fertőző *Colletotrichum* fajok: *Colletotrichum coccodes*, *Colletotrichum nympphaeae*, *Colletotrichum fiorinae* és *Colletotrichum acutatum* (Zivkovic *et al.*, 2010). A legújabb kutatás alapján 11 paradicsomot is fertőző *Colletotrichum* fajt írtak le (Talhinhas és Baroncelli, 2021). A terméseken besüppedő sötét foltok keletkeznek, melyek később rothadásnak indulnak, ezzel eladhatatlanná téve a termést.

Golovinomyces lycopersici

A paradicsom lisztharmatát több kórokozó is okozhatja. Az legelterjedtebb a *Golovinomyces lycopersici* és az *Erysiphe lycopersici*, de ezeken kívül a *Leveillula taurica* is gyakran előfordul. Tüneteit tekintve epifita vagy endofita (*Leveillula taurica*) micéliumot hoz létre a leveleken, néhány esetben pedig a száron. Súlyos fertőzés következtében ez a levelek száradásához vezethet. A többi gombás fertőzéssel ellentétben a lisztharmatok nem igényelnek olyan magas páratartalmat a fertőzéshez. Üvegházakban jelentős kórokozó a *Botrytis cinerea* mellett (Matsuda *et al.*, 2001).

Botrytis cinerea

A szürkerothadást okozó *Botrytis cinerea* a paradicsom esetében leginkább az üvegházakban okoz károkat, de polifág kórokozóként számos növény termesztését megnehezíti. A fertőzés gyorsan terjed megfelelő körülmények között, melyek a párás és zárt környezet. A legyengült, stresszelt növényeken a termések rothadásnak indulnak, illetve a levelek száradnak (Williamson *et al.*, 2007).

A paradicsomot érintő gombás betegségek áttekintése elengedhetetlen ahhoz, hogy megértsük a termesztés során fellépő különféle kórokozók jelentőségét és a velük szembeni védekezés komplexitását. A dolgozat fő fókusza a *Colletotrichum* nemzetség fajai által okozott fertőzések, de a fentebb említett egyéb gombás betegségek ismerete szintén szükséges a hatékony, fenntartható és gazdaságos paradicsom termesztéshez.

A szabadföldi termesztésben a *Colletotrichum* fajok komoly károkat okozhatnak, különösen meleg, nedves időjárás esetén. Az üvegházi termesztésben viszont a betegség előfordulása ritkább, és inkább más kórokozók dominálnak, mint például a fentebb említett *Botrytis cinerea*.

2.3 A *Colletotrichum* nemzetség

A *Colletotrichum* nemzetség számos jelentős kórokozót foglal magában, amelyek széles gazdanövénykörrel rendelkeznek világszerte, beleértve a paradicsomot is (Cannon *et al.*, 2012). A *Colletotrichum* nemzetségbe tartozó gombák jellemzően hemibiotróf életmódot folytatnak, ami azt jelenti, hogy kezdetben biotrófként élnek a gazdanövényen, anélkül, hogy súlyos károkat okoznának, majd később nekrotróffá válnak, és a növényi szöveteket pusztítják (Talhinhas és Baroncelli, 2021).

A *Colletotrichum* nemzetség első leírt faja a *Colletotrichum lineola*, amelyet 1831-ben August Carl Joseph Corda azonosított, egy *Apiaceae* családból származó növényi szárról, Közép-Európából a mai Cseh Köztársaság területéről (Hyde *et al.*, 2009). Ezt követően a fajok döntő többsége 1888-1975 között lett leírva (638 faj), ezután 1976 és 2008 között körülbelül évente 1 új fajt jegyeztek fel. Majd 2009-től 2021-ig további 228 fajt, ami évente 18.3 új fajt jelentett (Talhinhas és Baroncelli, 2021). Ahogy fejlődtek a molekuláris és genetikai vizsgálatok egyre több fajt különítettek el egymástól és fajkomplexeket hoztak létre. A *Colletotrichum* fajkomplexek különböző jellemzők alapján térnek el egymástól, amelyek molekuláris, morfológiai és ökológiai sajátosságokra épülnek. Az egyes komplexek elkülönítését és rendszertani besorolását leginkább molekuláris filogenteikai elemzések alapján végzik. A legfrissebb, 2022-es adatok szerint a *Colletotrichum* nemzetséghez 16 fajkomplex tartozik. Ezen kívül található 15 önálló (singleton) faj, amelyeket nem tudtak fajkomplexekbe sorolni (Liu *et al.*, 2022).

2.3.1 A *Colletotrichum* fajkomplexek közötti különbségek

Morfológiai különbségek: Morfológiailag a fajok konídiumai, szaporítóképleteik és hífáik alapján különíthetők el, Például a *C. acutatum* fajkomplex fajaira jellemzőek a hegyes végű konídiumok, míg a *C. gloeosporioides* fajkomplex fajtái tompább végű konídiumokat képeznek (Cannon *et al.*, 2012; Jayawardena, 2021).

Ökológiailag és gazdanövénykör alapján: Az egyes fajkomplexek eltérő gazdanövényekre specializálódhatnak, ami szintén segíti a fajok elkülönítését. Például a *C. acutatum* fajkomplex fajtái polifágok, széles gazdanövénykörrel rendelkeznek, míg a *C. orbiculare* fajkomplex tagjai specifikusan egy fajt vagy családot fertőznek (Cai *et al.*, 2009; Jayawardena, 2021).

Patogenitás és életmód alapján: Egyes fajkomplexek hemibiotróf életmódot követnek, míg mások endofitaként vagy nekrotrófként élnek. Például a *C. acutatum* fajkomplex tagjai

többségében hemibiotrófok, amíg a *C. orbiculare* tagjai inkább nekrotrof életmódúak (Peres *et al.*, 2005).

Molekuláris különbségek: A *Colletotrichum* fajkomplexek elkülönítéséhez többgénés molekuláris filogenetikai elemzést használnak. Az rDNA-ITS régiót széles körben alkalmazzák a gombák taxonómájában, de az olyan gének, mint a *gapdh*, *tub2*, *act*, *cal*, és *his3* is fontosak a különböző fajok közötti filogenetikai kapcsolatok meghatározásában (Cai *et al.*, 2009; Damm *et al.*, 2012a; Jayawardena, 2021).

2.4 A paradicsomot fertőző *Colletotrichum* fajok

Paradicsom tekintetében Talhinhas és Baroncelli (2021) tanulmánya alapján 11 paradicsomot is fertőző *Colletotrichum* fajt írtak le. Ezek a következő fajok: *C. acutatum*, *C. fiorinae*, *C. johnstonii*, *C. nymphaeae*, *C. salicis*, *C. simmondsii*, *C. boninense*, *C. karstii*, *C. truncatum*, *C. coccodes*, *C. nigrum*.

A *C. acutatum* fajkomplexből származik a legtöbb paradicsomot is fertőző *Colletotrichum* faj. Ez a fajkomplex rendkívül változatos, morfológiailag és filogenetikailag sokféle csoport. Korábban egyetlen fajnak tekintették (*Colletotrichum acutatum*), de később a molekuláris vizsgálatok fejlődésének köszönhetően számos új fajt különítettek el belőle. Damm és munkatársai (2012) jelentős taxonómiai átdolgozása 31 fajt ismert el a komplex részeként, ami mára 41-re bővült (Talhinhas és Baroncelli, 2021). A fajok gyakran okoznak gyümölcsrothadást, konídiumaik egyik vagy mindkét vége kihegyesedő, ami morfológiai jellemzőjük. A fajok elkülönítéséhez genetikai vizsgálatokat végeztek, ahol az ITS, *gapdh*, CHS-1, *act* és *tub2* gének szekvenciaadatait használták (Jayawardena, 2021; Talhinhas és Baroncelli, 2021). A fajkomplex paradicsomot is fertőző tagjai: *C. acutatum*, *C. fiorinae*, *C. johnstonii*, *C. nymphaeae*, *C. salicis* és a *C. simmondsii*.

A *C. boninense* fajkomplexből 2 faj is fertőzi a paradicsomot a *C. boninense* és a *C. karstii* (Talhinhas és Baroncelli, 2021). Ez a fajkomplex 25 közeli rokon fajt foglal magában. A konídiumok képzésénél jellemzőek a konídiumképző sejteknél a leválási hegek. A fajok közül néhány specifikus gazdanövényhez vagy földrajzi területekhez kötődik. A fajkomplex tagjai közt lehetnek fitopatogének vagy endofiták (Jayawardena, 2021). A *Colletotrichum boninense* fajt először Japánban, a Bonin- szigeteken azonosították, azóta számos növényen megtalálták világszerte. Különböző növénycsaládokban, például az *Amaryllidaceae*, *Orchidaceae*, *Proteaceae* és *Solanaceae* családokban fordul elő, gyakran antraknózist okozva a leveleken és a terméseken (Damm *et al.*, 2012b). A *C. karstii* a fajkomplex leggyakoribb és

földrajzilag legelterjedtebb faja, mely széles gazdanövénykörrel rendelkezik (Damm *et al.*, 2012b).

A *C. truncatum* fajkomplex négy közeli rokonságban álló fajból áll, amelyek közül kettő patogén, kettő pedig szaprofita. A fajokat jellegzetes morfológiai tulajdonságaik, például a görbült, tompa végű és éles csúcsú konídiumok alapján lehet megkülönböztetni (Jayawardena, 2021). A legtöbb faj gazdaspecifikus, kivéve a *C. truncatum*-ot, amely humán patogénként is megjelenhet (Squizzato *et al.*, 2015). A *C. truncatum* fertőzheti a paradicsomot is (Saini *et al.*, 2017).

Önálló fajok:

Paradicsomot fertőző *Colletotrichum*-ok közül kettő egyik fajkomplexbe se tartozik, ezeket nevezzük önálló (singelton) fajoknak. Ez a két faj a *C. coccodes* és a *C. nigrum*. A filogenetikai vizsgálatok azt mutatták, hogy a *C. coccodes* egy különálló leszármazási vonalat képvisel a nemzetségen belül (Jayawardena, 2016). Ezen elemzések alapján két kládot különítettek el a fajon belül: *C. coccodes* és *C. nigrum*. Az utóbbi klád létezését sokáig kérdésesnek tartották, de újabb vizsgálatok eredményeként mostanra önálló fajként ismerték el (Liu *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2013). Ennek ellenére a két közeli rokon faj megkülönböztetése nem egyszerű. Manova és munkatársai (2022) kutatása során, ahol a *Solanaceae* családot fertőző *Colletotrichum*okat vizsgálták, az ACT és TUB2 másodlagos DNS-barcode-ok alkalmazásával ők is alátámasztották a *coccodes* csoport két kládra való osztását. Továbbá a *C. nigrum* leginkább a termésekről, míg a *C. coccodes* főleg a gyökerekből került izolálásra (Manova *et al.*, 2022).

2.5 A *Colletotrichum* nemzetség rendszertani besorolása

A *Colletotrichum* nemzetség rendszertanilag a Gombák országába, a *Dikarya* alországba, *Ascomycota* törzsbe, *Pezizomycotinia* altörzsbe, ezen belül a *Sordariomycetes* osztályba, *Hypocreomyceridae* alosztályba és a *Glomerellales* renden belüli *Glomerellaceae* családba tartozik (Index Fungorum, 2024).

2.6 A *Colletotrichum* nemzetség földrajzi elterjedése

Jelenleg 2024 szeptemberében az Index Fungorum listája alapján 1060 *Colletotrichum* faj van leírva. Ezek közül 945 különálló fajként és a maradék 115, fajon belüli forma species-ként vagy varietas-ként van leírva (Index Fungorum, 2024).

A *Colletotrichum* nemzetség tagjai globálisan jelen vannak és számos gazdaságilag jelentős, illetve kevésbé jelentős növény patogénjei. Az elterjedésüket tekintve az összes kontinensen találkozhatunk képviselőjével, leszámítva az Antarktiszot. A legtöbb faj polifág,

azaz több gazdanövénnyel rendelkezik, de nemzetségen belül találkozhatunk oligofág (pl.: *C. lupini* csak a *Lupinus* spp.-t fertőzi) képviselővel is (Talhinhas és Baroncelli, 2021).

Alapvetően a *Colletotrichum* fajok többsége Ázsiából, Óceániából és Ausztráliából származik (**1. ábra**). Európába sok fajt behurcoltak és a klímaváltozásnak köszönhetően ezek a fajok meg is telepedtek. Földrajzi elhelyezkedését tekintve Magyarországnak a *C. nymphaeae*, *C. coccodes*, *C. fioriniae* és a *C. acutatum* fajokkal lehet számolni, ugyanis ezek a fajok Európában széles körben elterjedtek. Továbbá számolni lehet a *C. nigrum* megjelenésével is, Iličić és munkatársai (2024) már igazolták a kórokozó jelenlétét a szomszédos Szerbiában.

Species	N.C. America	S. America	Africa	Europe	Asia	Oceania	Total
<i>C. siamense</i>	20	38	6	0	144	25	228
<i>C. gloeosporioides</i>	10	17	6	54	110	20	217
<i>C. fructicola</i>	11	37	2	8	113	6	176
<i>C. fioriniae</i>	43	1	1	33	36	22	134
<i>C. truncatum</i>	5	4	2	2	110	7	130
<i>C. karstii</i>	16	24	6	19	48	19	130
<i>C. nymphaeae</i>	15	26	8	39	28	6	118
<i>C. acutatum</i>	0	10	15	19	4	28	68
<i>C. godetiae</i>	5	3	1	51	3	2	65
<i>C. theobromicola</i>	12	27	0	0	5	13	56
<i>C. tropicale</i>	9	26	0	0	13	0	48
<i>C. lupini</i>	5	1	4	17	2	16	45
<i>C. scovillei</i>	1	5	0	0	36	0	42
<i>C. simmondsii</i>	2	0	0	2	2	34	40
<i>C. brevisporum</i>	2	12	0	0	22	4	40
<i>C. asianum</i>	3	8	3	0	11	9	34
<i>C. coccodes</i>	7	1	2	13	4	4	31
Total (incl. other spp.)	335	353	98	420	1144	347	2697

1. ábra A *Colletotrichum* fajok előfordulásainak száma kontinensenként (azoknál a fajoknál, amelyeknél ebben a forrásban 30 vagy annál több feljegyzés szerepel) (Forrás: Talhinhas és Baroncelli, 2021) A hőtésképek (zöld – alacsony; piros – magas) az egyes fajok relatív előfordulási gyakoriságát ábrázolják kontinensenként.

2.7 A *Colletotrichum* nemzetség gazdasági jelentősége

A *Colletotrichum*-ok a világon a top 10 legtöbb gazdasági kárt okozó fitopatogén gombák közé tartoznak (Dean *et al.*, 2012). A *Colletotrichum* fajok által okozott antraknózisos betegség világszerte jelentős gazdasági kárt okoz a paradicsom termesztésben, gyakrabban szabadföldön, de növényházi körülmények között is előfordulhat. Ezek a gombás betegségek a növény minden részét megfertőzhetik, de a legnagyobb problémát a termés fertőzésével okozzák, ami súlyos termés kieséshez vezethet, különösen a termés érési szakaszában és a betakarítás után posztharveszt (Hyde *et al.*, 2009). A *Colletotrichum* fertőzések gazdasági jelentősége abban rejlik, hogy a fertőzésre ideális időben a terjedése gyors és azok a termések

amelyek már fertőzöttek nem gyógyíthatók, eladhatatlanok (Liu *et al.*, 2011). Ezen kívül posztharvest patogének is, mivel képesek nem-patogén formában túlélni, és a betakarítás után fertőzni a terméseket (Talhinhas és Baroncelli, 2021). Mivel a szabadföldi paradicsom termesztés során egy menetes betakarítás a bevett technológia, ezért jellemzően előfordul, hogy a termés túlél, ennek következtében könnyebben sérül és fertőződik meg gombás betegségekkel. A *C. coccodes* mint a legfőbb kórokozója a paradicsom antraknózisának, fungicides kezelés nélkül akár 70%-os termésveszteséget is okozhat szabadföldön. Többszöri fungicides kezelés mellett is 5-15%-os termésrothadással lehet számolni (Byrne *et al.*, 1997). Az egyik legfrissebben leírt faj Európában a *C. nigrum*, melyet 2024-ben mutattak ki Szerbiában, ahol jelentős gazdasági károkat okozott ez a kórokozó (Ilić *et al.*, 2024). Hasonló esetek fordultak elő az USA-ban, Oroszországban és Új-Zélandon is, ahol számottevő veszteségeket jelentettek a gomba (*C. nigrum*) fertőzése miatt. (Rivera *et al.*, 2016).

2.8 A paradicsomot fertőző *Colletotrichum* fajok által okozott tünetek

A *Colletotrichum* fajok tipikus tünete az antraknózis. A paradicsomon a különböző *Colletotrichum* fajok által okozott antraknózis nagyon hasonló, ezért nehéz a tünetek alapján meghatározni a különböző fajokat. A biztos határozás érdekében morfológiai és molekuláris vizsgálatokat szükséges végezni (Manova *et al.*, 2022). A fertőzés mind az éretlen, mind érett paradicsomokat érintheti, azonban a tünetek leginkább az érett terméseken jelentkeznek. A kezdeti tünetek kissé besüppedő kör alakú vizenyős foltokként jelentkeznek az érett termések felületén. Ezek a foltok gyorsan nőnek, majd a léziók helyén sötét koncentrikus gyűrűk (**2. ábra**) jelennek meg, amik később össze is nőhetnek. Ideális környezeti körülmények között a foltokban a lazac színtől a narancssárgán át, a szürke bármilyen árnyalatáig megjelenhet a konídiummassza (Kumar *et al.*, 2018; EPPO, 2024).



2. ábra Az antrachnózis tünetei paradicsomon: (a) besüppedt folt és narancssárga konídiummassza; (b) fekete acervuluszok (Forrás: Svetlana *et al.*, 2010)

2.9 A *Colletotrichum* fajok biológiája

A *Colletotrichum* fajok különböző életmódokkal és fertőzési mechanizmusokkal rendelkeznek. A nemzetségen belül a következő életmódok fordulnak elő: endofita, hemibiotróf, nekrotróf, látens, és nyugalmi (Cannon *et al.*, 2012). A hemibiotrófia, amely egy kezdeti biotróf fázist követően nekrotróf fázisba vált át, a leggyakoribb fertőzési forma a *Colletotrichum* nemzetségben. A *Colletotrichum* fajok képesek életmódjukat változtatni. Az életmódváltást a gazdanövény érettsége, ellenálló képessége, a környezeti tényezők, valamint a gomba virulenciája határozza meg (Jayawardena, 2021).

A *Colletotrichum* fajok életciklusa két fázisra osztható: aszexuális (ivartalan) és szexuális (ivaros) fázis. Az aszexuális ciklus során a gomba acervuluszokat hoz létre a gazdanövény intrakutikuláris rétegében. Amikor a micélium a növény epidermisze és a kutikula közé nő, a kutikula megreped, és az érett acervulusz láthatóvá válik, amiben konídiumok képződnek. Az ivaros alakok ritkán figyelhetők meg természetes környezetben. Az ivaros reprodukció során peritéciumok képződhetnek, amik segítik a gomba túlélését kedvezőtlen időszakokban (Jayawardena, 2021).

A *Colletotrichum*-ok fertőzési ciklusa 2 fő szakaszra osztható: fertőzés előtti (pre-infection) és fertőzés utáni (post-infection) (Jayawardena, 2021). A fertőzés előtti szakaszban a gomba behatol a növénybe és kolonizálja azt. Ez általában a konídiumok csírázásával és apresszórium kialakulásával történik. Az apresszóriumok segítik a gomba bejutását a növény kutikuláján keresztül (Perfect *et al.*, 1999). Ritkán előfordulhat, hogy a bejutás nem apresszóriumok segítségével történik, hanem a növény sérülésein keresztül, vagy akár a sztrómákon keresztül jut be a gomba, amit indirekt penetrációnak nevezünk (Latunde-Dada,

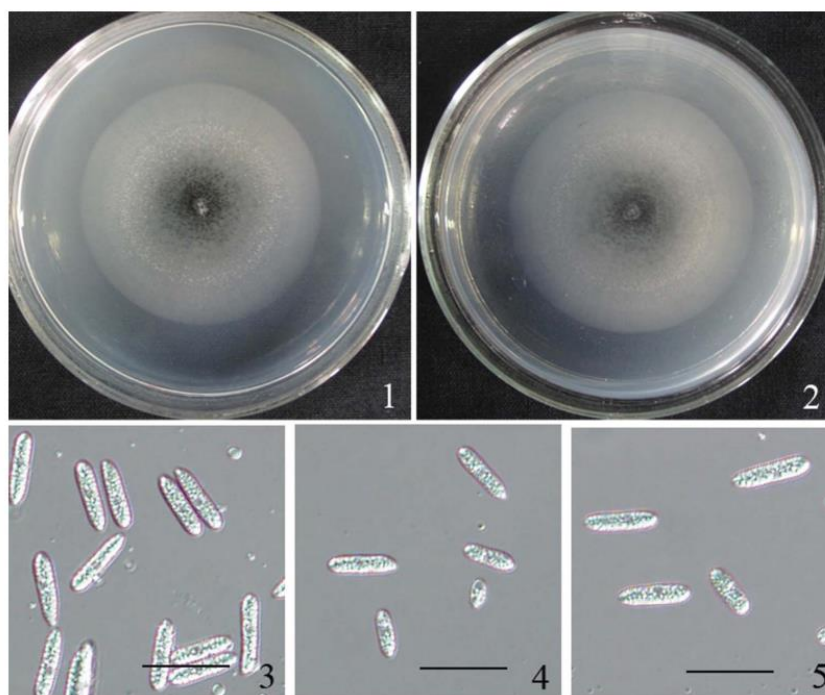
2001). A fertőzés utáni szakaszban a *Colletotrichum*-ok vagy hemibiotrófként vagy nekrotrófként folytatják a fertőzést. A hemibiotrófia egy tünetmentes biotróf fázissal kezdődik, majd átvált nekrotróf fázisba ahol a hifák sejtfal-bontó enzimeket termelve pusztítják a gazdanövényt (O’Connell *et al.*, 2012). Az *C. acutatum* fajkomplex fajtái, ahonnan a legtöbb paradicsomot is fertőző *Colletotrichum* származik, gyakran egy rövid biotróf fázis után átválnak nekrotróf fázisba, azaz hemibiotrófok (Damm *et al.*, 2012a).

2.10 A paradicsomot fertőző *Colletotrichum* fajok morfológiája és tenyészbélyegei

A *C. coccodes* tenyészbélyegei bugonya-dextróz agar (PDA) táptalajon kör alakúak, kezdetben fehéres színűek, majd idővel szürkés színűvé válnak, és fekete képletek (acervuluszok) képződnek bennük **(3. ábra)** (Liu *et al.*, 2011). A tenyészetekben konídiummassza is képződhet, ami a lazac színtől kezdve rózsaszínes, narancssárgás is lehet. A micélium ritkás, fehér színű. A tenyészet fonáki oldala fehéres-sárgás színű. A konídiumok szeptum nélküliek, sima falúak, hialinok (átlátszó), hengeresek és lekerekített végűek (Liu *et al.*, 2011; Pérez-Mora *et al.*, 2020). Mérettartományait a **2. táblázat** tartalmazza.

2. táblázat A *Colletotrichum coccodes* konídium méretei

Forrás	Konídium hosszúsága (µm)	Konídium szélessége (µm)
(Liu <i>et al.</i> , 2011)	16-26	2,5-5
(Pérez-Mora <i>et al.</i> , 2020)	15,5-21-3	3,6-5,3

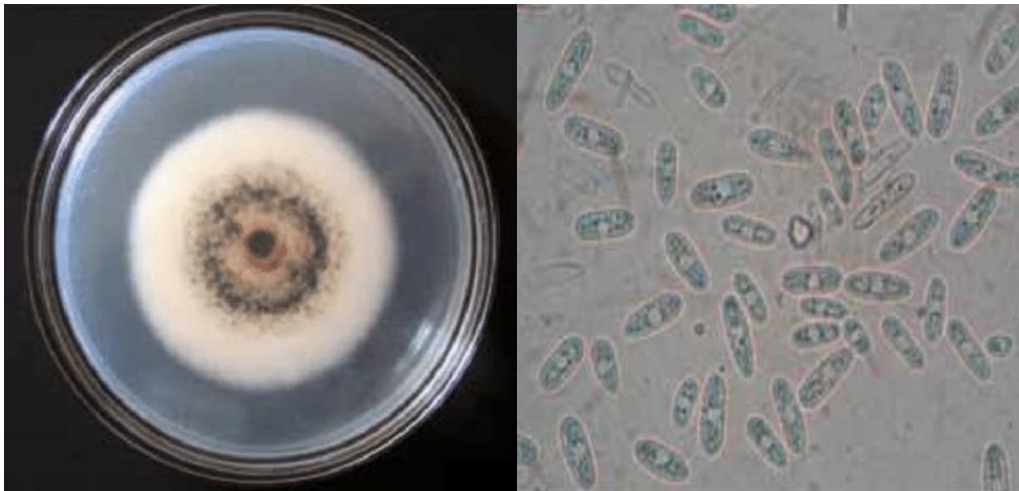


3. ábra A *Colletotrichum coccodes* tenyészbélyegei PDA táptalajon (1-2) és konídiumai (3-5)
(Forrás: Liu *et al.*, 2011)

A *Colletotrichum acutatum* PDA táptalajon fehérés-szürkés tenyészeteket képez. A tenyészet középpontjánál fekete acervuluszokat (**4. ábra**) fejleszt. A konídiumok hialinok, szeptum nélküliek, orsó alakúak vagy hengeresek, méretük a **3. táblázatban** található (Zivkovic *et al.*, 2010).

3. táblázat A *Colletotrichum acutatum* konídium méretei

Forrás	Konídiumok hosszúsága (µm)	Konídiumok szélessége (µm)
(Zivkovic <i>et al.</i> , 2010)	11,2-16-3	2,4-4,8
(Víchová <i>et al.</i> , 2012)	11-15	2,5-4



4. ábra A *Colletotrichum acutatum* tenyésztete PDA táptalajon és konídiumai 1000x-es nagyításon (Forrás: Zivkovic *et al.*, 2010)

A *Colletotrichum fioriniae* PDA táptalajon fehéres-világosszürke színű tenyészeteket képez, fonáki oldala narancssárgás-barnás színű (**5. ábra**). A tenyészet közepén láthatók sötét színű acervuluszok. Az acervuluszból a széták hiányoznak. A konídiumok hialinok, mindkét végük hegyes, méretük a **4. táblázatban** olvasható (Shivas és Tan, 2009; Da Lio *et al.*, 2018).

4. táblázat A *Colletotrichum fioriniae* konídium méretei

Forrás	Konídiumok hosszúsága (µm)	Konídiumok szélessége (µm)
(Shivas és Tan, 2009)	9-15	3-4,5
(Da Lio <i>et al.</i> , 2018)	10-14	3-4

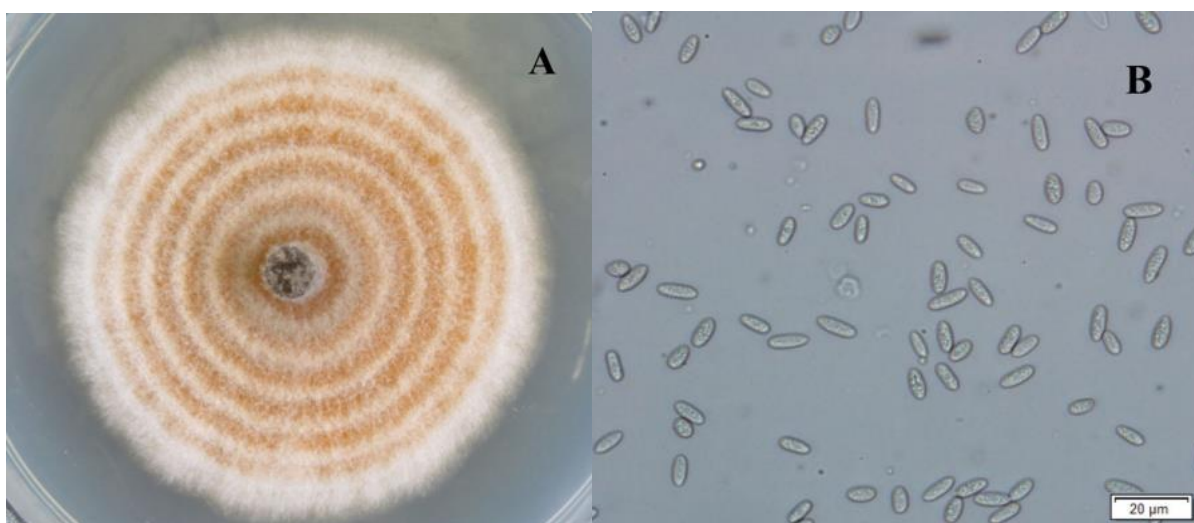


5. ábra A *Colletotrichum fioriniae* tenyésztete PDA táptalajon és konídiumai (Forrás: Fu *et al.*, 2019)

A *Colletotrichum nymphaeae* PDA táptalajon fehérés- szürkés tenyészeteket képez. Felszínén lazacszínű koncentrikus körökben képződnek a konídiumok (**6. ábra**). A konídiumok hialinok, rövidek, hengeresek, végeik lekerekítettek, méreteik az **5. táblázatban** láthatók (Guginski-Piva *et al.*, 2018; Chechi *et al.*, 2019).

5. táblázat A *Colletotrichum nymphaeae* konídium méretei

Forrás	Konídiumok hosszúsága (µm)	Konídiumok szélessége (µm)
(Guginski-Piva <i>et al.</i> , 2018)	12,3-13,6	5,1-6,3
(Chechi <i>et al.</i> , 2019)	8-25,9	2,4-9,9



6. ábra A *Colletotrichum nymphaeae* tenyésze PDA táptalajon (A) és konídiumai (B)
(Forrás: Guginski-Piva *et al.*, 2018)

A *Colletotrichum nigrum* tenyésze PDA táptalajon kezdetben fehérés vagy szürkés színű micéliummal átszőtt. Később a tenyészet szürkés-fekete színű lesz, az acervuluszok megjelenése miatt (**7. ábra**). A konídiumok hialinok, sima falúak, henger alakúak, méretüket a **6. táblázatban** olvashatjuk (Liu *et al.*, 2013; Iličić *et al.*, 2024).

6. táblázat A *Colletotrichum nigrum* konídium méretei

Forrás	Konídiumok hosszúsága (µm)	Konídiumok szélessége (µm)
(Iličić <i>et al.</i> , 2024)	12,6-23,1	2,1-4,2
(Liu <i>et al.</i> , 2013)	15-20	3,5-4



7. ábra A *Colletotrichum nigrum* tenyésztete PDA táptalajon (b) és konídiumai
(Forrás: Liu *et al.*, 2013; Ilić *et al.*, 2024)

3. Anyag és módszer

3.1 A vizsgálat helye és ideje

A vizsgálatokat a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetemen, a Növényvédelmi Intézet, Növénykórtani Tanszékének laboratóriumában végeztük 2022–2023 között.

3.2 A vizsgálat anyaga

3.2.1 A vizsgált növények

A vizsgálathoz a *Colletotrcihum* nemzetség jellegzetes tüneteit mutató paradicsom terméseket gyűjtöttünk. A minták Sződligetről házikertből, a soroksári tangazdaságból és Veresegyházról származnak. Az izolátumok kódjai, gazdanövénye, a gyűjtés helye és ideje a 7. táblázatban olvasható.

7. táblázat A vizsgált izolátumok kódja, gazdanövénye, gyűjtés helye és ideje

Izolátumok kódja	Gazdanövény	Gyűjtés helye	Gyűjtés ideje
P01	<i>Solanum lycopersicum</i>	Veresegyház	2022.09.15
P02	<i>Solanum lycopersicum</i>	Veresegyház	2022.09.15
P03	<i>Solanum lycopersicum</i>	Sződliget	2022.09.20
P04	<i>Solanum lycopersicum</i>	Sződliget	2022.09.20
P05	<i>Solanum lycopersicum</i>	Soroksár	2022.09.07
P06	<i>Solanum lycopersicum</i>	Soroksár	2022.09.07
P07	<i>Solanum lycopersicum</i>	Soroksár	2023.09.15
P08	<i>Solanum lycopersicum</i>	Soroksár	2023.09.15

3.2.2 Felhasznált eszközök

A kutatás folyamán a tanszéken található fém-, üveg-, porcelán-, és műanyag eszközöket használtuk. A tenyészeteket 85 mm-es műanyag Petri-csészékben neveltük és tartottuk fenn. Az izolálásra és a tiszta tenyészetek indítására Thermo Scientific MSC 1.2 lamináris fülke alatt került sor, majd Sanyo MLR-351-es fitotrónban inkubáltuk őket. A beteg növényi részek és szaporítóképleteik vizsgálatához LeicaMZ6 sztereomikroszkópot és Nikon Eclipse 50i kutatómikroszkópot használtunk. A képeket QImaging MicroPublisher 5.0 RTV kamerával rögzítettük.

A polimeráz láncreakciókhoz Applied Biosystem 9700-as PCR készüléket használtuk, illetve Thermolyne Maxi Mix Plus vortexet és Minispin Eppendorf asztali centrifugát, valamint az UniEquip és Univapo 100 ECH vákuum koncentrátor készülékeket használtuk még.

3.2.3 Táptalaj és indítószekvenciák

Izoláláshoz burgonya dextróz agar (Potato dextrose agar, PDA, BioLab Zrt.) táptalajt használtunk. Az izolátumok fenntartásához és a tiszta tenyészetekhez szintén PDA táptalajt alkalmaztunk.

A molekuláris azonosításához univerzális indítószekvenciákat alkalmaztunk, melyek a kórokozók 18S rRNS gén egy darabját, az ITS régiót, az 5,8S rRNS gént, az ITS2 régiót valamint a 28S rRNS-t kódoló gén egy darabját amplifikálják. ITS1 primer: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG -3', ITS4 primer: 5'- TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' (White *et al.*, 1990). A PCR vizsgálathoz DreamTaq DNS polimeráz enzimet (Thermo Scientific) használtunk. Az actin gén vizsgálatához az ACT-512F: 5'-ATGTGCAAGGCCGGTTTCGC -3' és ACT-783R: 5'-TACGAGTCCTTCTGGCCCAT -3' (Carbone és Kohn, 1999) primerpárt; a kalmodulin gén vizsgálatához a CA_CAL1: 5'-TGAGTACAAGGAGGCCTTCTCCC-3', CA_CAL2: 5'-TTTTTGCATCATGAGTTGGACGAAGCTC -3' (O'Donnell *et al.*, 2000) primerpárt használtuk.

A PCR termékeket High Pure PCR Product Purification Kit-tel (Roche) tisztítottuk a szekvencia meghatározás előtt.

3.3 A vizsgálat módszere

3.3.1 A minták gyűjtése és tárolása

A minták begyűjtése során a tipikus tüneteket mutató paradicsom terméseket begyűjtöttük papírzacsókba, majd műanyag zárható dobozba egyesével, majd 4 Celsius fokon hűtve tároltuk, amíg a laborba nem kerültek.

3.3.2 A tünetek jellemzése

A fertőzés jeleit mutató terméseket szabad szemmel (folt színe, alakja, mérete, kiindulási pontja stb.), valamint sztereó mikroszkóp alatt (pl. szaporító képletek jelenléte) tanulmányoztuk és eredményeinket feljegyeztük.

3.3.3 A kórokozó izolálása táptalajon, tiszta tenyészetek fenntartása

Ha a begyűjtött mintán láttunk szaporító képletet akkor arról izoláltuk a kórokozót, abban az esetben ha nem volt szaporító képlet akkor a termés belső szövetéből, a beteg és az egészséges növényi rész határáról izoláltuk a kórokozókat PDA táptalajon. A Petri-csészéket parafilmmel lezártuk, majd 24 °C-n, sötétben inkubáltuk azokat.

Azon tenyészetek széléből, melyek növekedésnek indultak, micéliumkorongot metszettünk ki majd áthelyeztük steril táptalajra, így létrehozva a tiszta tenyészeteket. A tenyészeteket 4 hetente átoltottuk, így tartottuk fent azokat.

3.3.4 Morfológiai vizsgálatok

Vizsgáltuk a konídiumok keletkezésének helyét, sejtszámát, színét, módját és alakját valamint 50-50 konídium hosszúságát és szélességét. A konídiumokat steril lándzsátűvel emeltük le a tenyészetekről, majd tárgylemezre helyeztük őket. A tárgylemezen lévő konídiumokat pedig citoplaszt mikroszkóppal vizsgáltuk.

A tiszta tenyészetek esetében vizsgáltuk a tenyészetek alakját, színét, felszínét és a szaporítóképletek keletkezését.

3.3.5 Patogenitási teszt

A visszafertőzéshez, patogenitási tesztekhez tünetmentes, egészséges terméseket használtunk, melyek felszínét 10%-os hipóval fertőtlenítettünk lamináris fülke alatt. Miután a termések megszáradtak a fertőtlenítést követően, steril üvegekbe, steril üveggyöngyökre helyeztük őket. Az üveggyöngyök alá steril vizet is öntöttünk. A terméseket 14 napos tenyészetekből származó 5 mm-es micélium korongokkal inokuláltuk, miután a terméseken steril lándzsátűvel sebzést ejtettünk. A kontroll terméseket steril PDA koronggal inokuláltuk **(8. ábra)**.



8. ábra Bal oldalon kontroll (steril táptalajjal fertőzött), jobb oldalon a tiszta tenyészetből származó micéliumkoronggal fertőzött paradicsomok; 1. nap (Fotó: Tornay, 2022)

3.3.6 Molekuláris azonosítás

Nukleinsav kivonás

A DNS kinyeréshez, fiatal, 1 hetes tenyészeteket használtunk. Ezekből a tenyészetekből lamináris fülke alatt micéliumot helyeztünk át steril dörzsmozsárba, majd kvarchomok segítségével eldörzsöltük azokat. Majd 700 µl CTAB puffert (2% CTAB; 1,4 M NaCl; 20 mM EDTA; 100 mM TRIS-HCL pH: 8; 0,2% 2-ME) adtunk hozzá és tovább homogenizáltuk a mintákat. A kapott elegyet 40 percen keresztül 65 °C-os asztali termosztátban inkubáltuk.

A szennyeződések és fehérjék eltávolításához a mikorcentrifuga csövekbe szerves oldószert, 700 µl izoamilalkoholos-kloroformot (1:24 v/v) pipettáztunk. Ezeket kézi rázást követően vortex segítségével összekevertük, majd 10 percen keresztül centrifugáltuk őket szobahőmérsékleten és 13.400 fordulat/perc fordulatszámon. A csövek felszínén lévő vizes fázist tiszta csövekbe pipettáztuk, majd térfogatarányosan izoamilalkoholos-kloroformot adtunk hozzá és vortexeltük őket. Ezt követően ismét 10 percig centrifugáltuk 13.400 fordult/perc-en. A felső fázist ismét tiszta csövekbe pipettáztuk és hozzáadtunk 600 µl izopropanolt, ezzel a nukleinsavakat denaturáltuk. Ismét centrifugáltunk, de már csak 5 percig, utána a felülúszót leöntöttük majd 70%-os etanollal 5 percig ismét centrifugálva mostuk. Az

etanolt ezt követően leöntöttük, majd a pelletet 10 percen keresztül vákuum szárítóba helyeztük. A szárítást követően 30 µl RNase-t tartalmazó TE-oldatban oldottuk vissza. Az így kapott örökítőanyagot -20 °C-on tároltuk.

Polimeráz-láncreakció (polymerase chain reaction, PCR)

A vizsgálathoz az alábbiakat mértük össze 40 µl végtérfogatra reakciónként: 20µl Thermo Scientific Master Mix (2X) (MgCl₂ 20mM, dNTPS 5mM, DreamTaq puffer, DreamTaq polimeráz enzim 5 u/µl), 2-2 µl primer (20 pmol/µl), 4 µl DNS és 12 µl steril víz.

Egy ciklus a polimeráz láncreakció során három lépésből állt: denaturáció 94 °C, 30 mp (komplementer szálak elválasztása), annelláció 55 °C (ITS, ACT), 59 °C (kalmodulin), 30 mp (indítószekvenciák kötődése) és elongáció 72 °C, 120 mp (láncosszabbítás). Az elsődleges denaturációt (94 °C, 5 perc) 35 ciklus követte. A reakció a befejező láncosszabbítással (72 °C, 10 perc) zárult.

A PCR eredményét Eco Safe festéket (Eco Safe Nucleic Acid Staining Solution, Biocenter) tartalmazó 1%-os agarózgélben gélelektroforézissel ellenőriztük.

A célszekvenciákat a Biomi (Gödöllő, Magyarország) céghez küldtük közvetlen szekvencia meghatározásra. A szekvenciák szerkesztéséhez, illetve összehasonlításához CLC Sequence Viewer 7 (CLC Bio) programot használtunk. A kórokozók azonosításához az NCBI (National Center for Biotechnology Information) adatbázist, illetve annak BLAST programját használtuk fel.

4. Eredmények

4.1 Tünetek

Ahogy a **9. ábrán** is látható, a begyűjtött mintákon tipikus *Colletotrichum* okozta antraknózisos tünetek voltak láthatók. A tüneteket minden esetben szeptemberben figyeltük meg, többségében túlérrett terméseken. A terméseken több pontból is kiinduló foltokat figyeltünk meg, amelyek pár millimétertől pár centiméter nagyságig terjedtek. A foltok a termés szövetébe besüppedtek. A foltokban sötét színű acervuluszok, és narancssárga színű konídiummassza is megjelent (**9. ábra**). A foltok alatt a paradicsom húsa puhult, rothadásnak indult.



9. ábra *Colletotrichum* okozta antraknózisos tünetek paradicsom termésen Soroksáron (Fotó: Tóth, 2023)

4.2 Morfológiai tulajdonságok és tenyészbélyegek

A begyűjtött minták közül a táptalajra leoltást követően, a P02, P03 és P04 izolátumok esetében az *Alternaria* fajokra jellemző tenyészet fejlődött ki. Határozás után, ezen mintákat nem vizsgáltuk tovább.

A P01, P05, P06, P07 és P08 izolátumoknál a leoltás után a *Colletotrichum* nemzetségre jellemző tenyészbélyegeket figyeltünk meg.

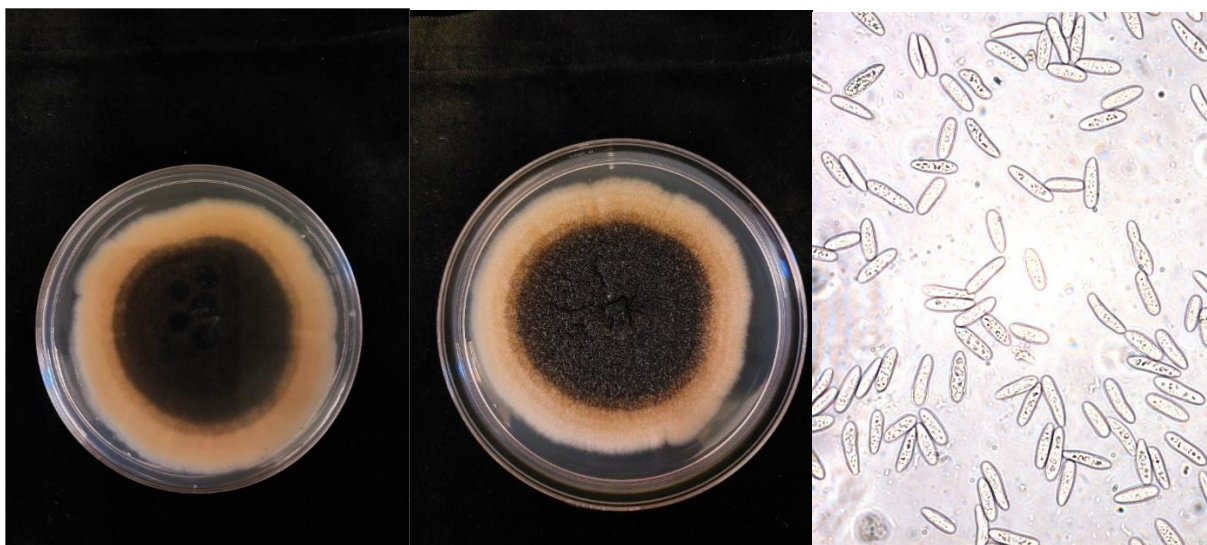
A leoltást követően a nyers tenyészetekben kétféle tenyészetet figyeltünk meg. Az egyik izolátum PDA táptalajon eleinte fehéres-szürkés, kör alakban fejlődő tenyészetet hozott létre, ami később barnás-szürkés színt vett fel. A tenyészet közepén világos barna konídiummassza fejlődött. Továbbá zónázottság is megfigyelhető koncentrikus körök formájában (**10. ábra**). A másik izolátum eleinte szürkés-fehéres kör alakú tenyészetet képzett, ami később a tenyészet szélétől a középpont felé halvány narancssárgás színt vett fel, közepén halvány narancssárga színű konídiummasszát hozott létre (**10. ábra**).



10. ábra Nyers tenyészet PDA táptalajon 1 hét után (bal: színi oldal, jobb: fonáki oldal)
(Fotó: Tornay 2023)

Átoltás után a tiszta tenyészetek nagyon hasonló morfológiai bélyegeket hoztak létre a táptalajon. Az idősebb tenyészetek széle halványbarna színű és a tenyészet közepe felé egyre sötétebb barna, fekete lett. A tenyészetek közepén sötét acervuluszok figyelhetők meg. Továbbá mindkét izolátum esetében felfedezhető koncentrikus kör alakú zónázottság. A konídiumok hialinok, egysejtűek, henger alakúak mindkét izolátum esetében (**11. és 12. ábra**). A P05-ös

izolátum konídiumainak hossza átlagosan 15,84 μm , szélessége pedig 3,45 μm volt. A P07-es izolátum esetében a konídiumok hossza átlagosan 16,11 μm , szélessége pedig 3,32 μm volt.



11. ábra A P05-ös izolátum színi és fonáki oldala PDA táptalajon és konídiumai (Fotó: Tornay, 2023)



12. ábra P07-es izolátum színi és fonáki oldala PDA táptalajon és konídiumai (Fotó: Tornay, 2023)

4.3 Patogenitási teszt

A vizsgált minták esetében 4-7 nappal az inokulálást követően elváltozások jelentek meg az inokulált terméseken. A patogenitási teszt során a Koch pusztulátumok minden izolátum esetében teljesültek (**13. ábra**). A kontroll terméseken az értékelés napjáig nem jelent meg tünet.

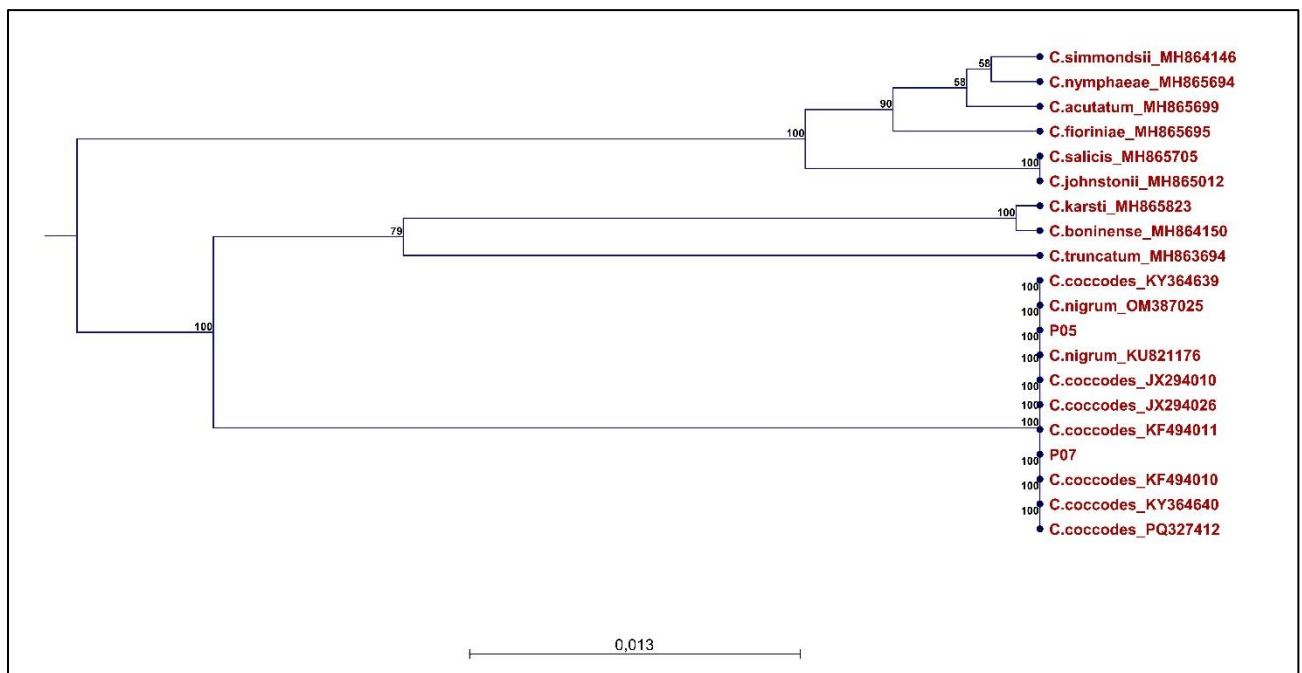


13. ábra A patogenitási teszt eredménye visszafertőzés után 7 nappal (Fotó: Tóth, 2023)

4.4 Molekuláris azonosítás

A molekuláris azonosítás során a P05 és P07 izolátumokkal dolgoztunk. Az azonosítás során az NCBI adatbázist, illetve annak BLAST programját használtuk fel. Az ITS régió alapján történő azonosítás során az ITS1 és ITS4 univerzális primerek kb. 600 bázispár hosszúságú szakaszt sokszoroztak meg a polimeráz láncreakciókban.

A törzsfán a paradicsomot fertőző *Colletotrichum* fajokat tüntettük fel. Az általunk vizsgált izolátumok 100%-os homológiát mutattak a *Colletotrichum coccodes* és *Colletotrichum nigrum* izolátumokkal és külön ágon helyezkednek el a többi *Colletotrichum* izolátumtól (14. ábra).



14. ábra A paradicsomot fertőző *Colletotrichum* izolátumok dendrogramja az ITS régió szekvenciárészlete alapján

Az actin és kalmodulin gén alapján történő azonosítást is elvégeztük, mely során a CA_CAL1 – CA_CAL2 primerek kb. 750 bázispár, míg az ACT-512F – ACT-783R primerek kb. 300 bázispár hosszúságú szakaszt sokszoroztak meg a polimeráz láncreakciókban.

Mindkét gén vizsgálata során ugyanazt az eredményt kaptuk, szekvenciáink a *Colletotrichum coccodes* és *C. nigrum* fajokkal is 100%-os homológiát mutattak (15. és 16. ábra).

5. Következtetések

A kutatás célja az volt, hogy megvizsgáljuk, hogy hazánkban milyen *Colletotrichum* fajok fordulnak elő paradicsom (*Solanum lycopersicum*) növényen. A paradicsom antraknózisáért a *Colletotrichum coccodes*-t tartjuk felelősnek hazánkban (Glits és Folk, 2000) azonban az elmúlt évtizedekben a *Colletotrichum* nemzetség kutatását nagymértékben elősegítette a gén alapú azonosítási technikák fejlődése. Ennek köszönhetően számos, korábban egy fajként meghatározott *Colletotrichum*-ról derült ki, hogy morfológiailag hasonlóak, viszont genetikailag elkülöníthetők egymástól. Így számos új fajt írtak le, amik fertőzhetik a paradicsomot (Jayawardena, 2021; Talhinhas és Baroncelli, 2021)

A paradicsomon megfigyelt tünetek megegyeztek a szakirodalmi adatokkal. Több pontból kiinduló, besüppedő foltokat figyeltünk meg, amiben megjelent az acervulusz és a narancssárga konídiummassza is (Glits és Folk, 2000; Liu *et al.*, 2011). A morfológiai vizsgálatot illetően az idősebb tenyészetek széle halványbarna színű és a tenyészet közepe felé egyre sötétebb barna, fekete (**11. és 12. ábra**) a *C. nigrum* tenyészetével (**7. ábra**) (Iličić *et al.*, 2024) nagyobb hasonlóságot mutat, mint a *C. coccodes* faj tenyészetével (**3. ábra**) (Liu *et al.*, 2011). A konídiumok alakja és mérete alapján mind a két faj hasonló tulajdonságokkal rendelkezik (Liu *et al.*, 2011, 2013; Pérez-Mora *et al.*, 2020; Iličić *et al.*, 2024), amit a mi méréseink is alátámasztanak.

Molekuláris vizsgálatink során azonban a minták nemcsak a *Colletotrichum coccodes*, hanem a *Colletotrichum nigrum* fajjal is 100%-ban egyeznek. Manova és munkatársai (2022) felhívják a figyelmet arra, hogy csupán az ITS régió vizsgálata nem elegendő a két faj elkülönítéséhez. Vizsgálataink során ezért nemcsak az ITS régiót, hanem az actin és a kalmodulin géneket is vizsgáltuk. Azonban ennek a két régiónak a vizsgálata sem különítette el a két fajt egymástól. Chang és munkatársai (2024) 6 gén vizsgálatával tudták egyértelműen elkülöníteni egymástól a két fajt. Egyes szakirodalmak a *C. coccodes*-en belül két kládot emelnek ki: a *C. coccodes* és *C. nigrum* (Liu *et al.*, 2013). Jelen eredményeink alapján nem mondhatjuk ki egyértelműen, hogy a mintákból izolált gomba a *C. coccodes* vagy a *C. nigrum* faj.

Ezek az eredmények hasznosak lehetnek a jövőben a *C. nigrum* és *C. coccodes* faj további vizsgálataihoz. A *C. coccodes* faj egy sokkal jobban vizsgált faj, ezért több a tudományos értekezés róla. Ezzel szemben a *C. nigrum* egy kevésbé kutatott faj, kevés szakirodalom található róla, így ezzel a kutatással bővíthető a gombáról található kutatások száma. Továbbá a paradicsom termesztés tekintetében sem elhanyagolható, hogy mely fajok

találhatók meg hazánkban. Liu és munkatársai (2013) kutatásai alapján a *C. nigrum* jóval szélesebb gazdanövénykörrel rendelkezik, mint a *C. coccodes*. A *C. nigrum* képes fertőzni egyéb kultúrnövényeket, mint például a *Fragaria* sp. vagy *Lens culinare*, illetve gyomokat is mint a *Cichorium intybus* vagy a *Helianthus tuberosus*. Növényvédelmi tekintetben minél nagyobb gazdanövénykörrel rendelkezik egy faj, annál nagyobb kockázatot jelent (Abdullah *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2023).

Az eredmények alapján nem egyértelmű, hogy pontosan melyik faj okozta a tüneteket, ezért további minták vizsgálatára lenne szükség a meghatározáshoz. Vizsgálatainkat elősegítette volna, ha több mintával végezzük a kísérletet, ám a 2024 nyár végi száraz idő nem kedvezett a *Colletotrichum* fajoknak, így nem találtunk új antraknózisos paradicsom terméseket. A kutatás folytatása ezért érdemes lenne a jövőben.

6. Összefoglalás

A *Colletotrichum* fajok kutatása az egész világon széleskörű. Ez köszönhető gazdanövénykörüknek, valamint morfológiai és molekuláris sokféleségüknek. Paradicsom esetében már 11 *Colletotrichum* faj jelenlétét írták le. Vizsgálatunk során célul tűztük ki, hogy mely *Colletotrichum* fajok fordulhatnak elő paradicsomon hazai viszonylatban. Jelenleg hazánkban a *Colletotrichum coccodes* fajt tartják felelősnek a betegség kialakulásáért. A *Colletotrichum* fajok antraknózisos tüneteket okoznak a paradicsom érésben lévő termésén és posztharvest is megjelenhetnek a tünetek, valamint a növény többi részét is fertőzhetik. A kutatáshoz magyarországi helyszínekről (Veresegyház, Sződliget, Soroksár) gyűjtöttünk paradicsom terméseket, amik antraknózisos tüneteket mutattak. A mintákat 2022 és 2023 szeptemberében gyűjtöttük. A kórokozót PDA (burgonya-dextróz-agar) táptalajon izoláltuk és tiszta tenyészeteket hoztunk létre. A Koch-posztulátumok minden esetben teljesültek. Elvégeztük a tiszta tenyészetek morfológiai vizsgálatait, valamint lemértük a konídiumokat is. Molekuláris vizsgálatokat is végeztünk. Az ITS régió, az actin és kalmodulin gén alapján történő azonosítást is elvégeztük. Az ITS régió és a gének vizsgálata során is ugyanazt az eredményt kaptuk, szekvenciáink a *Colletotrichum coccodes* és *C. nigrum* fajokkal is 100%-os homológiát mutattak. Az eredményeink alapján nem elkülöníthető a két faj, bár morfológiai vizsgálataink során a PDA táptalajon vizsgált tiszta tenyészet morfológiai bélyegei a *C. nigrum* fajjal mutatnak nagyobb hasonlóságot. Ez alapján további vizsgálatok lennének szükségesek a két faj pontos meghatározásához. Eredményeink hozzájárulnak a *Colletotrichum* nemzetség kutatásaihoz, valamint a magyarországi paradicsom termesztés fejlődéséhez és az Integrated Pest Management (IPM) tökéletesítéséhez.

7. Köszönetnyilvánítás

A kutatás Dr. Tóth Annamária és Szendrei Lilla Phd. hallgató nélkül nem jöhetett volna létre. Köszönöm mindkettejük kitartó munkáját és segítségét a kutatásom során. Továbbá köszönöm a családom támogatását egyetemi tanulmányaim alatt.

8. Irodalomjegyzék

1. Abdullah, A.S., Moffat, C.S., Lopez-Ruiz, F.J., Gibberd, M.R., Hamblin, J., Zerihun, A., 2017. Host–Multi-Pathogen Warfare: Pathogen Interactions in Co-infected Plants. *Front. Plant Sci.* 8, 1806. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01806>
2. Alon, D.M., Hak, H., Bornstein, M., Pines, G., Spiegelman, Z., 2021. Differential Detection of the Tobamoviruses Tomato Mosaic Virus (ToMV) and Tomato Brown Rugose Fruit Virus (ToBRFV) Using CRISPR-Cas12a. *Plants* 10, 1256. <https://doi.org/10.3390/plants10061256>
3. Bujarski, J., Gallitelli, D., García-Arenal, F., Pallás, V., Palukaitis, P., Reddy, M.K., Wang, A., ICTV Report Consortium, 2019. ICTV Virus Taxonomy Profile: Bromoviridae. *Journal of General Virology* 100, 1206–1207. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001282>
4. Byrne, J.M., Hausbeck, M.K., Latin, R.X., 1997. Efficacy and Economics of Management Strategies to Control Anthracnose Fruit Rot in Processing Tomatoes in the Midwest. *Plant Disease* 81, 1167–1172. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.10.1167>
5. Cai, L., Hyde, K., Taylor, P., Weir, B., Waller, J., Abang, M., Zhang, J.Z., Yang, Y.L., Phoulivong, S., Liu, Z.Y., 2009. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. *Fungal Diversity* 39.
6. Cannon, P.F., Damm, U., Johnston, P.R., Weir, B.S., 2012. *Colletotrichum* – current status and future directions. *Studies in Mycology* 73, 181–213. <https://doi.org/10.3114/sim0014>
7. Carbone, I., Kohn, L.M., 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia* 91, 553–556. <https://doi.org/10.1080/00275514.1999.12061051>
8. Cebolla-Cornejo, J., Roselló, S., Nuez, F., 2013. Phenotypic and genetic diversity of Spanish tomato landraces. *Scientia Horticulturae* 162, 150–164. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.07.044>
9. Chang, J., Crous, P.W., Ades, P.K., Wang, W., Liu, F., Damm, U., Vaghefi, N., Taylor, P.W.J., 2024. Potato leaf infection caused by *Colletotrichum coccodes* and *C. nigrum*. *Eur J Plant Pathol* 170, 163–167. <https://doi.org/10.1007/s10658-024-02891-4>
10. Chechi, A., Stahlecker, J., Zhang, M., Luo, C.X., Schnabel, G., 2019. First Report of *Colletotrichum fioriniae* and *C. nymphaeae* Causing Anthracnose on Cherry Tomatoes

- in South Carolina. *Plant Disease* 103, 1042–1042. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-18-1696-PDN>
11. Da Lio, D., Cobo-Díaz, J.F., Masson, C., Chalopin, M., Kebe, D., Giraud, M., Verhaeghe, A., Nodet, P., Sarrocco, S., Le Floch, G., Baroncelli, R., 2018. Combined Metabarcoding and Multi-locus approach for Genetic characterization of *Colletotrichum* species associated with common walnut (*Juglans regia*) anthracnose in France. *Sci Rep* 8, 10765. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29027-z>
 12. Damm, U., Cannon, P.F., Woudenberg, J.H.C., Crous, P.W., 2012a. The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology* 73, 37–113. <https://doi.org/10.3114/sim0010>
 13. Damm, U., Cannon, P.F., Woudenberg, J.H.C., Johnston, P.R., Weir, B.S., Tan, Y.P., Shivas, R.G., Crous, P.W., 2012b. The *Colletotrichum boninense* species complex. *Studies in Mycology* 73, 1–36. <https://doi.org/10.3114/sim0002>
 14. Dean, R., Van Kan, J.A.L., Pretorius, Z.A., Hammond-Kosack, K.E., Di Pietro, A., Spanu, P.D., Rudd, J.J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., Foster, G.D., 2012. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 13, 414–430. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
 15. EPPO, 2024. EPPO [WWW Document]. <https://gd.eppo.int/>.
 16. EPPO Standards: Good plant protection practice [WWW Document], 2004. . <https://gd.eppo.int/>.
 17. FAO, 2023. FAO [WWW Document]. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>.
 18. Fu, M., Crous, P.W., Bai, Q., Zhang, P.F., Xiang, J., Guo, Y.S., Zhao, F.F., Yang, M.M., Hong, N., Xu, W.X., Wang, G.P., 2019. *Colletotrichum* species associated with anthracnose of *Pyrus* spp. in China. *persoonia* 42, 1–35. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2019.42.01>
 19. Glits, M., Folk, G., 2000. Kertészeti növénykórtan, Mezőgazda. Mezőgazda kiadó, Budapest.
 20. Guginski-Piva, C.A., Bogo, A., Gomes, B.R., Menon, J.K., Nodari, R.O., Welter, L.J., 2018. Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum nymphaeae* and *C. fructicola* associated with anthracnose symptoms of grape in Santa Catarina State, southern Brazil. *J Plant Dis Prot* 125, 405–413. <https://doi.org/10.1007/s41348-018-0176-2>
 21. Hyde, K.D., Cai, L., Cannon, P.F., Crouch, J.A., Damm, U., Goodwin, P.H., Chen, H., Johnston, P.R., Jones, E.B.G., Liu, Z.Y., McKenzie, E.H.C., Moriwaki, J., Noireung,

- P., Pennycook, S.R., Pfenning, H., Prihastuti, T., Sato, T., Shivas, R.G., Tan, Y.P., 2009. *Colletotrichum* - names in current use. *Fungal diversity* 147–182.
22. Iličić, R., Blagojević, J., Bagi, F., Konstantin, Đ., Trkulja, V., Trkulja, N., Popović Milovanović, T., 2024. First report of *Colletotrichum nigrum* causing tomato anthracnose in Serbia. *Plant Prot. Sci.* 60, 305–309. <https://doi.org/10.17221/14/2024-PPS>
23. Index Fungorum [WWW Document], 2024. URL <https://www.indexfungorum.org/names/Names.asp?pg=6>
24. Jayawardena, R., 2021. *Colletotrichum*: lifestyles, biology, morpho-species, species complexes and accepted species. *Mycosphere* 12, 519–669. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/12/1/7>
25. Jayawardena, R., 2016. Notes on currently accepted species of *Colletotrichum*. *Mycosphere* 7, 1192–1260. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/si/2c/9>
26. Jones, J.B., 2016. *Compendium of tomato diseases and pests*, Second edition. ed. APS Press/The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.
27. Kasselaki, A.-M., Malathrakakis, N.E., Goumas, D.E., Cooper, J.M., Leifert, C., 2008. Effect of alternative treatments on seed-borne *Didymella lycopersici* in tomato. *Journal of Applied Microbiology* 105, 36–41. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03715.x>
28. Latunde-Dada, A.O., 2001. *Colletotrichum*: tales of forcible entry, stealth, transient confinement and breakout. *Molecular Plant Pathology* 2, 187–198. <https://doi.org/10.1046/j.1464-6722.2001.00069.x>
29. Liu, F., Cai, L., Crous, P.W., Damm, U., 2013. Circumscription of the anthracnose pathogens *Colletotrichum lindemuthianum* and *C. nigrum*. *Mycologia* 105, 844–860. <https://doi.org/10.3852/12-315>
30. Liu, F., Hyde, K.D., Cai, L., 2011. Neotypification of *Colletotrichum coccodes*, the causal agent of potato black dot disease and tomato anthracnose. *Mycology* 2, 248–254. <https://doi.org/10.1080/21501203.2011.600342>
31. Liu, F., Ma, Z.Y., Hou, L.W., Diao, Y.Z., Wu, W.P., Damm, U., Song, S., Cai, L., 2022. Updating species diversity of *Colletotrichum*, with a phylogenomic overview. *Studies in Mycology* 101, 1–56. <https://doi.org/10.3114/sim.2022.101.01>
32. Manova, V., Stoyanova, Z., Rodeva, R., Boycheva, I., Korpelainen, H., Vesterinen, E., Wirta, H., Bonchev, G., 2022. Morphological, Pathological and Genetic Diversity of the

- Colletotrichum Species, Pathogenic on Solanaceous Vegetable Crops in Bulgaria. JoF 8, 1123. <https://doi.org/10.3390/jof8111123>
33. Matsuda, Y., Kashimoto, K., Takikawa, Y., Aikami, R., Nonomura, T., Toyoda, H., 2001. Occurrence of New Powdery Mildew on Greenhouse Tomato Cultivars. J Gen Plant Pathol 67, 294–298. <https://doi.org/10.1007/PL00013034>
 34. Nandi, M., Macdonald, J., Liu, P., Weselowski, B., Yuan, Z., 2018. *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* : bacterial canker of tomato, molecular interactions and disease management. Molecular Plant Pathology 19, 2036–2050. <https://doi.org/10.1111/mpp.12678>
 35. Navas-Castillo, J., Camero, R., Bueno, M., Moriones, E., 2000. Severe Yellowing Outbreaks in Tomato in Spain Associated with Infections of *Tomato chlorosis virus*. Plant Disease 84, 835–837. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.8.835>
 36. Nowicki, M., Foolad, M.R., Nowakowska, M., Kozik, E.U., 2012. Potato and Tomato Late Blight Caused by *Phytophthora infestans* : An Overview of Pathology and Resistance Breeding. Plant Disease 96, 4–17. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-11-0458>
 37. O’Connell, R.J., Thon, M.R., Hacquard, S., Amyotte, S.G., Kleemann, J., Torres, M.F., Damm, U., Buiate, E.A., Epstein, L., Alkan, N., Altmüller, J., Alvarado-Balderrama, L., Bauser, C.A., Becker, C., Birren, B.W., Chen, Z., Choi, J., Crouch, J.A., Duvick, J.P., Farman, M.A., Gan, P., Heiman, D., Henrissat, B., Howard, R.J., Kabbage, M., Koch, C., Kracher, B., Kubo, Y., Law, A.D., Lebrun, M.-H., Lee, Y.-H., Miyara, I., Moore, N., Neumann, U., Nordström, K., Panaccione, D.G., Panstruga, R., Place, M., Proctor, R.H., Prusky, D., Rech, G., Reinhardt, R., Rollins, J.A., Rounsley, S., Schardl, C.L., Schwartz, D.C., Shenoy, N., Shirasu, K., Sikhakolli, U.R., Stüber, K., Sukno, S.A., Sweigard, J.A., Takano, Y., Takahara, H., Trail, F., Van Der Does, H.C., Voll, L.M., Will, I., Young, S., Zeng, Q., Zhang, J., Zhou, S., Dickman, M.B., Schulze-Lefert, P., Ver Loren Van Themaat, E., Ma, L.-J., Vaillancourt, L.J., 2012. Lifestyle transitions in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi deciphered by genome and transcriptome analyses. Nat Genet 44, 1060–1065. <https://doi.org/10.1038/ng.2372>
 38. O’Donnell, K., Nirenberg, H.I., Aoki, T., Cigelnik, E., 2000. A Multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: Detection of additional phylogenetically distinct species. Mycoscience 41, 61–78. <https://doi.org/10.1007/BF02464387>
 39. Parker, S.K., Nutter, F.W., Gleason, M.L., 1997. Directional Spread of Septoria Leaf Spot in Tomato Rows. Plant Disease 81, 272–276. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.3.272>

40. Peres, N.A., Timmer, L.W., Adaskaveg, J.E., Correll, J.C., 2005. Lifestyles of *Colletotrichum acutatum*. Plant Disease 89, 784–796. <https://doi.org/10.1094/PD-89-0784>
41. Pérez-Mora, J.L., Cota-Rodríguez, D.A., Rodríguez-Palafox, E.E., García-León, E., Beltrán-Peña, H., Lima, N.B., Tovar-Pedraza, J.M., 2020. First confirmed report of *Colletotrichum coccodes* causing black dot on potato in Mexico. J Plant Dis Prot 127, 269–273. <https://doi.org/10.1007/s41348-019-00291-z>
42. Perfect, S.E., Hughes, H.B., O’Connell, R.J., Green, J.R., 1999. *Colletotrichum*: A Model Genus for Studies on Pathology and Fungal–Plant Interactions. Fungal Genetics and Biology 27, 186–198. <https://doi.org/10.1006/fgbi.1999.1143>
43. Qi, S., Zhang, S., Islam, Md.M., El-Sappah, A.H., Zhang, F., Liang, Y., 2021. Natural Resources Resistance to Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV) in Tomato (*Solanum lycopersicum*). IJMS 22, 10978. <https://doi.org/10.3390/ijms222010978>
44. Rao, A.V., Agarwal, S., 2000. Role of Antioxidant Lycopene in Cancer and Heart Disease. Journal of the American College of Nutrition 19, 563–569. <https://doi.org/10.1080/07315724.2000.10718953>
45. Saini, T.J., Gupta, S.G., Anandalakshmi, R., 2017. Detection of tomato anthracnose caused by *Colletotrichum truncatum* in India. Australasian Plant Dis. Notes 12, 48. <https://doi.org/10.1007/s13314-017-0271-4>
46. Shivas, R., Tan, Y.P., 2009. A taxonomic re-assessment of *Colletotrichum acutatum*, introducing *C. fioriniae* comb. et stat. nov. and *C. simmondsii* sp. nov. Fungal Diversity 39, 111–122.
47. Squizzato, V., Yucel, Y.H., Richardson, S.E., Alkhotani, A., Wong, D.T., Nijhawan, N., Chan, C.C., 2015. *Colletotrichum truncatum* species complex: Treatment considerations and review of the literature for an unusual pathogen causing fungal keratitis and endophthalmitis. Medical Mycology Case Reports 9, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2015.06.001>
48. Svetlana, Ž., Saša, S., Žarko, Iv., Trkulja, N., Nenad, D., Aleksić, G., Balaž, J., 2010. Morphological and Molecular Identification of *Colletotrichum acutatum* from Tomato Fruit. Pesticidi i Fitomedicina 25. <https://doi.org/10.2298/PIF1003231Z>
49. Talhinhos, P., Baroncelli, R., 2021. *Colletotrichum* species and complexes: geographic distribution, host range and conservation status. Fungal Diversity 110, 109–198. <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00491-9>

50. Víchová, J., Staňková, B., Pokorný, R., 2012. First Report of *Colletotrichum acutatum* on Tomato and Apple Fruits in the Czech Republic. Plant Disease 96, 769–769. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-11-0849-PDN>
51. White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J., 1990. AMPLIFICATION AND DIRECT SEQUENCING OF FUNGAL RIBOSOMAL RNA GENES FOR PHYLOGENETICS, in: PCR Protocols. Elsevier, pp. 315–322. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
52. Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., Van Kan, J.A.L., 2007. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. Molecular Plant Pathology 8, 561–580. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00417.x>
53. Zhang, Y., Chen, J., Manawasinghe, I., Lin, Y., Jayawardena, R., McKenzie, E., Hyde, K., Xiang, M., 2023. Identification and characterization of *Colletotrichum* species associated with ornamental plants in Southern China. Mycosphere 14, 262–302. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/14/si2/5>
54. Zivkovic, S., Stojanovic, S., Ivanovic, Z., Trkulja, N., Dolovac, N., Aleksic, G., Balaz, J., 2010. Morphological and molecular identification of *Colletotrichum acutatum* from tomato fruit. Pesticidi i fitomedicina 25, 231–239. <https://doi.org/10.2298/PIF1003231Z>

9. Ábrák és táblázatok jegyzéke

Táblázat jegyzék

1. táblázat: A paradicsomot fertőző fontos kórokozók listája 5.-6. oldal
2. táblázat A *Colletotrichum coccodes* konídium méretei 15. oldal
3. táblázat A *Colletotrichum acutatum* konídium méretei 16. oldal
4. táblázat A *Colletotrichum fioriniae* konídium méretei 17. oldal
5. táblázat A *Colletotrichum nymphaeae* konídium méretei 18. oldal
6. táblázat A *Colletotrichum nigrum* konídium méretei 18. oldal
7. táblázat A vizsgált izolátumok kódja, gazdanövénye, gyűjtés helye és ideje 20. oldal

Ábrajegyzék

1. ábra A *Colletotrichum* fajok előfordulásainak száma kontinensenként (azoknál a fajoknál, amelyeknél ebben a forrásban 30 vagy annál több feljegyzés szerepel) (Forrás: Talhinhas és Baroncelli, 2021) **12. oldal**
2. ábra Az antraknózis tünetei paradicsomon: (a) besüppedt folt és narancssárga konídiummassza; (b) fekete acervuluszok (Forrás: Svetlana *et al.*, 2010) **14. oldal**
3. ábra A *Colletotrichum coccodes* tenyészbélyegei PDA táptalajon (1-2) és konídiumai (3-5) (Forrás: Liu *et al.*, 2011) **16. oldal**
4. ábra A *Colletotrichum acutatum* tenyészet PDA táptalajon és konídiumai 1000x-es nagyításon (Forrás: Zivkovic *et al.*, 2010) **17. oldal**
5. ábra A *Colletotrichum fioriniae* tenyészet PDA táptalajon és konídiumai (Forrás: Fu *et al.*, 2019) **17. oldal**
6. ábra A *Colletotrichum nymphaeae* tenyészet PDA táptalajon (A) és konídiumai (B) (Forrás: Guginski-Piva *et al.*, 2018) **18. oldal**
7. ábra A *Colletotrichum nigrum* tenyészet PDA táptalajon (b) és konídiumai (Forrás: Liu *et al.*, 2013; Ilić *et al.*, 2024) **19. oldal**

8. ábra Bal oldalon kontroll (steril táptalajjal fertőzött), jobb oldalon a tiszta tenyészetből származó micéliumkoronggal fertőzött paradicsomok; 1. nap (Fotó: Tornay, 2022) **23. oldal**

9. ábra *Colletotrichum* okozta antraknózisos tünetek paradicsom termésen Soroksáron (Fotó: Tóth, 2023) **25. oldal**

10. ábra Nyers tenyészet PDA táptalajon 1 hét után (bal: színi oldal, jobb: fonáki oldal) (Fotó: Tornay 2023) **26. oldal**

11. ábra A P05-ös izolátum színi és fonáki oldala PDA táptalajon és konídiumai (Fotó: Tornay, 2023) **27. oldal**

12. ábra P07-es izolátum színi és fonáki oldala PDA táptalajon és konídiumai (Fotó: Tornay, 2023) **27. oldal**

13. ábra A patogenitási teszt eredménye visszafertőzés után 7 nappal (Fotó: Tóth, 2023) **28. oldal**

14. ábra A paradicsomot fertőző *Colletotrichum* izolátumok dendrogramja az ITS régió szekvenciárészlete alapján **29. oldal**

15. ábra A paradicsomot fertőző *Colletotrichum* izolátumok dendrogramja az ACT gén szekvenciárészlete alapján **30. oldal**

16. ábra A paradicsomot fertőző *Colletotrichum* izolátumok dendrogramja a CAL gén szekvenciárészlete alapján **30. oldal**

NYILATKOZAT

diplomadolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Tornay Levente
A Hallgató Neptun kódja: JGWYNJ
A dolgozat címe: Paradicsomot fertőző Colletotrichum izolátumok jellemzése
A megjelenés éve: 2024
A konzulens intézetének neve: Növényvédelmi intézet
A konzulens tanszékének a neve: Növénykórtani tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott diplomadolgozat 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.

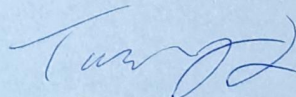
A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemitulajdon-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: 2024. október 29.



Hallgató aláírása

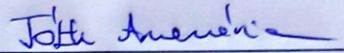
NYILATKOZAT

Tornay Levente (JGWYNJ) 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 nem^{*3}

Kelt: 2024 év 10 hó 29 nap



belső konzulens

¹ A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törölendő.

² A megfelelő aláhúzendó.

³ A megfelelő aláhúzendó.