

SZENT ISTVÁN EGYETEM

MEGGYANTRAKNÓZIS: a kórokozó jellemzése,
genetikai diverzitása és a növényvédelmi technológia
kidolgozása

TÓTH ANNAMÁRIA

GÖDÖLLŐ

2017.

A doktori iskola

Megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola

Tudományága: Agrártudományok, Növénytermesztési és kertészeti tudományok

Vezetője: Zámboriné dr. Németh Éva

tanszékvezető, egyetemi tanár, DSc

SZIE, Kertészettudományi Kar

Gyógy- és Aromanövények Tanszék

Témavezetők: Dr. Palkovics László

tanszékvezető, egyetemi tanár, DSc

SZIE, Kertészettudományi Kar

Növénykórtani Tanszék

Dr. Petróczy Marietta

adjunktus, PhD

SZIE, Kertészettudományi Kar

Növénykórtani Tanszék

A jelölt a Szent István Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, azért az értekezés védési eljárásra bocsátható.

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

Rövidítések jegyzéke	6
1. BEVEZETÉS	7
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	9
2.1. Rendszertani besorolás	9
2.2. A <i>Colletotrichum acutatum</i> fajkomplex kialakulása és összetétele	9
2.3. Gazdasági jelentősége	10
2.4. A kórokozó földrajzi elterjedése	11
2.5. Gazdanövénykör	12
2.6. Tünetek	13
2.7. Biológiája	15
2.8. A <i>Colletotrichum</i> fajok azonosítása	16
2.8.1. Azonosítás morfológiai és tenyészbélyegek alapján	17
2.8.2. Azonosítás molekuláris módszerekkel	19
2.9. Az antraknózis kórokozója elleni növényvédelem lehetőségei	21
2.9.1. A fajták ellenállósága és fogékonysága	21
2.9.2. Agrotechnikai és mechanikai védelem	22
2.9.3. Kémiai növényvédelem	23
2.9.4. Biológiai növényvédelem	25
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	27
3.1. A vizsgálat helye és ideje	27
3.2. A vizsgálat anyaga	27
3.2.1. Izolátumok	27
3.2.2. Növények	30
3.2.3. Indítószekvenciák	31
3.2.4. Plazmid és baktérium törzs klónozáshoz	31
3.2.5. Táptalajok, enzimek, kitek	32
3.2.6. Növényvédő szerek és termélnövelő anyagok	32
3.2.7. Eszközök	35
3.3. A vizsgálat módszere	35
3.3.1. A növényi részek gyűjtése és tárolása	35
3.3.2. A kórokozó jelenlétének vizsgálata tünetmentes leveleken	36
3.3.3. A kórokozók izolálása táptalajon és a tenyészetek fenntartása	37
3.3.4. A morfológiai és tenyészbélyegek megállapítása és értékelése	37

3.3.5. Patogenitási teszt	38
3.3.6. A meggyfajta fogékonyságának vizsgálata	38
3.3.7. Molekuláris biológiai vizsgálatok	38
3.3.8. A növényvédő szerek és termésnövelő anyagok hatásának vizsgálata <i>in vitro</i> körülmények között	43
3.3.9. A növényvédő szerek hatása <i>in vivo</i> körülmények között a meggyantraknózis kórokozója ellen	45
3.3.10. A vizsgálatok során alkalmazott statisztikai módszerek	50
4. EREDMÉNYEK	53
4.1. Tünetek és gazdanövénykör	53
4.2. Különböző gazdanövényről származó izolátumok morfológiai jellemzése	54
4.2.1. A konídiumok morfológiája	54
4.2.2. A tenyészetek morfológiája	57
4.3. Patogenitási teszt	61
4.4. Az izolátumok meghatározása klasszikus mikológiai módszerekkel	61
4.5. A kórokozók azonosítása molekuláris módszerrel	62
4.5.1. Azonosítás az ITS régió alapján	62
4.5.2. Azonosítás a hiszton 3 gén szekvenciareészlete alapján	62
4.5.3. Azonosítás a hiszton 3 gén és az ITS régió együttes vizsgálata alapján	63
4.5.4. Azonosítás a kalmodulin gén alapján	63
4.6. A meggyantraknózis kórokozójának biológiája	68
4.6.1. A kórokozó áttelelésének vizsgálata	68
4.6.2. A kórokozó tünetmentes fertőzése meggyleveleken	68
4.6.3. A kórokozó azonosítása a tünetmentes levelekről	70
4.7. Meggyfajta fogékonyságának <i>in vitro</i> vizsgálata	72
4.7.1. Meggyfajta fogékonyságának vizsgálata fenológiai fázis szerint	72
4.7.2. A kecskeméti fajtagyűjteményből származó meggyfajta fogékonyságának vizsgálata	74
4.8. A növényvédő szerek hatékonysága a meggyantraknózis kórokozójával szemben laboratóriumi körülmények között	74
4.8.1. Szisztémikus és mélyhatású készítmények hatása a micélium növekedésére	74
4.8.2. Kontakt készítmények hatása a micélium növekedésére	77
4.8.3. A növényvédő szerek hatékonyságának vizsgálata a konídiumok csírázására	79

4.9. Termésmnövelő anyagok hatékonysága a meggyantraknózis kórokozójával szemben laboratóriumi körülmények között	80
4.10. Növényvédelmi technológiák hatékonysága a meggyantraknózis kórokozójával szemben	82
4.10.1. Nagyparcellás kísérlet - Sóskút, 2012	82
4.10.2. Kisparcellás kísérlet - Kiskunmajsa, 2012	84
4.10.3. Nagyparcellás kísérlet - Sóskút, 2013	85
4.10.4. Kisparcellás kísérlet - Kiskunmajsa, 2013	85
4.10.5. A növényvédelmi technológiák hatékonysága a hűtőtárolás során /Kiskunmajsa, 2013/	87
4.11. Új tudományos eredmények	88
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	89
6. ÖSSZEFOGLALÁS	100
7. SUMMARY	102
8. MELLÉKLETEK	104
1. melléklet: Irodalomjegyzék	104
2. melléklet: A vizsgált konídiumok átlagos mérete és a szélső értékek	117
3. melléklet: Az izolátumokkal végzett vizsgálatok	119
4. melléklet: <i>Colletotrichum</i> izolátumaink génbanki azonosító számai (ITS régió, hiszton 3 gén)	121
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	123

Rövidítések jegyzéke

bp	bázispár
DNS	dezoxiribonukleinsav
<i>C.</i>	<i>Colletotrichum</i>
CABI	Centre for Agriculture and Biosciences International
CTAB	cetil-trimetilammónium-bromid
ED ₅₀	Effective Dose, hatásos dózis
EDTA	etilén-diamin-tetraecetsav
EPPO	European and Mediterranean Plant Protection Organization
GAPDH	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, glicerin aldehyd-3-foszfát dehidrogenáz
ITS	Internal Transcribed Spacer
KCl	kálium-klorid
LSU	large subunit, nagy alegység
MAT	mating-type, párosodási típus
ME	2-merkaptó-etanol
MgCl ₂	magnézium-klorid
NaCl	nátrium-klorid
NaOH	nátrium-hidroxid
NCBI	National Center for Biotechnology Information
OA	oat agar, zabliszt agar
PCR	Polymerase Chain Reaction, Polimeráz-lánreakció
PDA	Potato dextrose agar, Burgonya-dextróz agar
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA (véletlenszerűen sokszorosított polimorf DNS)
RNase	ribonukleáz
rDNS	riboszomális RNS-t kódoló sejtmagi dezoxiribonukleinsav
rRNS	riboszomális ribonukleinsav
SDS	sodium-dodecil-suphate, nátrium-dodecil-szulfát
SNA	synthetic nutrient-poor agar, szintetikus tápanyagszegény agar
SSU	small subunit, kis alegység
TE	Tris-EDTA puffer
USDA	United States Department of Agriculture
u	unit

1. BEVEZETÉS

Magyarország, mint az Európai Unió egyik fontos meggytermesztője, a világon egyedülálló fajtakínálattal rendelkezik. A 14 ezer ha meggyültetvény 40-70 ezer tonna termést biztosít évente (**KSH, 2015**). A megfelelő minőségű és mennyiségű gyümölcs előállításához azonban elengedhetetlen ültetvényeink védelme az élettani hatásokkal és a károsítókkal szemben egyaránt. A növényvédelem területén egy, már feledésbe merült kórokozóval kell a termesztőknek újra szembenézniük. A meggyantraknózis kórokozóját hazánkban elsőként Lehoczky János azonosította és írta le 1957-ben *Gloeosporium fructigenum* Berk. néven. A gomba kártétele és a betegség jelentősége a termésfertőzésben nyilvánul meg. A gyümölcsökön barna színű, fénytelen, besüppedő foltok jelennek meg, amelyekben párás időben, ragacsos, narancssárga színű konídiummassza látható. A fertőzött termések eladhatatlanná válnak. A kórokozóval a korábbi évtizedekben nem kellett számolni növényvédelmi szempontból, egészen a 2006-os járványos fellépéséig. A meggyantraknózis elleni növényvédelmi kezelések nem képezték részét a meggy elleni növényvédelmi technológiának és engedélyezett növényvédő szer is alig volt a kórokozó ellen, így a termesztőket váratlanul érte a járványszerű fertőzés. A gomba okozta súlyos kártételnek okaira sokan keresték a választ. Befolyásolhatták egyrészt a fajtasortimentben bekövetkezett változások, hiszen a betegség korábban nem okozott számottevő veszteséget, így a nemesítők nem szelektáltak antraknózissal szemben ellenálló fajtakat. Esetleg megjelenhetett a kórokozó új, agresszívebb változata, illetve a kórokozó számára kedvező időjárási körülmények és az inokulum felhalmozódása is hozzájárulhatott a járvány kialakulásához.

A *Colletotrichum* nemzetség világszerte elterjedt, sok fajt foglal magában, melyek között számos, gazdaságilag igen jelentős kórokozót találhatunk. A kultúrnövények széles skáláján antraknózist okozó *Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds kórokozót Simmonds 1965-ben választotta külön a *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. fajtól molekuláris módszerekkel. A legújabb kutatási eredmények alapján, a kórokozót inkább gyűjtőfajnak (vagy más néven: fajkomplexnek) tekintik, mely számos különálló, de egymással igen szoros filogenetikai rokonságot mutató *Colletotrichum* fajt foglal magába. A fajkomplex tagjai morfológiai tulajdonságaikban nagyon hasonlítanak egymásra, ezért a pontos azonosításhoz elengedhetetlen a nukleinsav alapú, lehetőleg több génre vagy régióra kiterjedő, ún. „multilocus”-os vizsgálat.

A meggy antraknóziséval kapcsolatos vizsgálatok több szempontból is aktuálisak. A termesztők szempontjából legfontosabb a hatékony növényvédő szerek kiválasztása és

a növényvédelmi technológia kidolgozása, hiszen a monilíniás kezelések végeztével a védekezéseket folytatni kell az antraknózis kórokozója ellen. A technológia kidolgozásához elengedhetetlen a kórokozó biológiájának és gazdanövénykörének feltérképezése, valamint a fajták fogékonyságának ismerete. A tudomány számára a kórokozó meghatározásán túl fontos annak diverzitása, morfológiai és molekuláris változékonysága, valamint a fajkomplexen belüli elhelyezkedése.

Vizsgálataink során az alábbi célkitűzéseket fogalmaztuk meg:

- Antraknózis jellegzetes tüneteit mutató termések gyűjtése az ország több pontjáról, különböző gazdanövényekről;
- A kórokozók izolálása és jellemzése morfológiai és tenyészbélyegek alapján;
- A kórokozók azonosítása és jellemzése nukleotid szekvencia alapján (ITS régió, hiszton 3 gén, kalmodulin gén);
- Az 1956-ban megjelent kórokozó összehasonlítása az elmúlt évek meggyantraknózis járványait kiváltó kórokozóval;
- A kórokozó biológiájának vizsgálata (áttelelés, vegetációban történő terjedés);
- Termesztett meggyfajták fogékonyságának vizsgálata *in vitro* körülmények között;
- A növényvédő szerek és temésnövelő anyagok hatékonyságának vizsgálata a kórokozó micéliumnövekedésére és konídiumainak csírázására *in vitro* körülmények között;
- Növényvédelmi technológiák tesztelése és értékelése termőültetvényekben, kis- és nagyparcellás körülmények között.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Rendszertani besorolás

A *Colletotrichum acutatum sensu lato* (továbbiakban: *Colletotrichum acutatum*, *C. acutatum*) világszerte ismert növénypatogén gomba, amely számos növényen okoz tüneteket, elsősorban antraknózist (Peres és mtsai., 2005). A fajt Simmonds (1965) határozta meg új taxonómiai egységként, különválasztva a *C. gloeosporioides* és *C. acutatum* fajokat (Arx, 1970).

Guerber és Correll (2001) *in vitro* körülmények között figyelték meg az ivaros alakot, amely a *Glomerella acutata* nevet kapta. *In vivo* elsőként Talgø és mtsai. (2007) találták meg és jellemezték az ivaros alakot fürtös áfonya (*Vaccinium corymbosum*) termésein. A gomba az *Ascomycota* törzs *Pyrenomycetes* osztályának *Phyllachorales* rendjébe, és azon belül a *Glomerellaceae* családba tartozik (Index Fungorum, 2011).

A legújabb kutatási eredmények alapján a *C. acutatum* nem egy egységes fajnak, sokkal inkább egy sok fajt magába foglaló fajkomplexnek tekinthető. Az ide tartozó kórokozók többségét korábban a *C. gloeosporioides* (*Glomerella cingulata*) fajjal azonosították morfológiai tulajdonságaik alapján (Damm és mtsai., 2012).

2.2. A *Colletotrichum acutatum* fajkomplex kialakulása és összetétele

Miután Simmonds (1965) számos izolátumot vizsgálva taxonómiaiilag elkülönítette a *C. acutatum* fajt, számos tanulmány jelent meg a kórokozóval kapcsolatban, amelyek mind a gomba gazdanövénykörét, mind a tüneteket tekintve nagy változékonyságáról tanúskodtak (Sreenivasaprasad és mtsai., 1994; Johnston és Jones, 1997; Lardner és mtsai., 1999; Freeman és mtsai., 2001a; Nirenberg és mtsai., 2002; Talhinhas és mtsai., 2002; Guerber és mtsai., 2003; Lubbe és mtsai., 2004; Du és mtsai., 2005; Peres és mtsai., 2005; Sreenivasaprasad és Talhinhas, 2005; Talhinhas és mtsai., 2005; Johnston és mtsai., 2008).

A *C. acutatum* szokatlan diverzitására az ITS (internal transcribed spacer) régió szekvenciája alapján Sreenivasaprasad és mtsai. (1996) hívták fel a figyelmet, majd javaslatot tettek a faj kettéosztására. Johnston és Jones (1997) négy morfológiailag különböző csoportot különített el a 28S rRNS gén szekvencia adataival alátámasztva (*C. acutatum* A, B és C csoport és a *Glomerella miyabeana* csoport). Lardner és mtsai. (1999) RAPD analízissel valamint a morfológiai és tenyészbélyegek összehasonlításával 7 alcsoportot különített el a fajon belül. A faj további felosztását Sreenivasaprasad és Talhinhas (2005) folytatta, A1-től A8-ig különítették el alcsoportokat a *C. acutatum* fajon belül az rDNS ITS és a béta-tubulin DNS (TUB2) génrészlet szekvenciái alapján. Ezek a kládok nagy hasonlóságot mutatnak a korábban meghatározott

alcsoportokkal. **Whitelaw-Weckert és mtsai. (2007)** újabb alcsoport (A9) meghatározásával bővítették a faj diverzitását. Ekkortól vált világossá, hogy a *C. acutatum* faj, valójában egy olyan fajkomplex, amely vélhetően számos, különálló fajt foglal magába, azonban a morfológiai és tenyészbélyegek hiányos ismerete miatt, csak ekkor kezdték el az önálló fajokat meghatározni.

A *C. acutatum* fajkomplex tagjaként határozták meg a *C. lupini* (**Nirenberg és mtsai., 2002**) és *C. phormii* fajt (**Farr és mtsai., 2006**). **Shivas és Tan (2009)** tanulmányában az ITS és a béta-tubulin génrészletek szekvenciáit összevetve a morfológiai sajátosságokkal új fajként írták le a *C. simmondsii* és *C. fioriniae* fajokat. **Faedda és mtsai. (2011)** a *C. clavatum* fajjal bővítették a fajkomplexet. **Baroncelli (2012)** tanulmányában 67 db, szamócáról származó *Colletotrichum* izolátumot vizsgált meg és sorolt be három csoportba, négy vizsgált lókuszt (ITS régió, β -tubulin2, GAPDH és MAT1-2) szekvenciája alapján. A három genetikai csoport (A2, A3, A4) mindegyikéhez egy-egy új fajt sikerült kapcsolni, melyek sorrendben a következők: *C. nymphaeae*, *C. fioriniae*, *C. godetiae*. A 67 izolátum majdnem háromnegyed része (73%) az A2 csoporthoz, 18% az A4-hez, 9% pedig az A3 csoporthoz tartozott.

Damm és mtsai. (2012) több száz, különböző földrajzi helyről és gazdanövényről származó izolátumot vizsgáltak morfológiai és molekuláris módszerekkel egyaránt. Kutatásuk eredményeképp 31 *Colletotrichum* fajt azonosítottak, amelyek közül 21-et új fajként írtak le a tudomány számára. Az általuk megkülönböztetett fajok a következők: *C. acerbum*, *C. acutatum*, *C. australe*, *C. brisbanense*, *C. chrysanthemii*, *C. cosmi*, *C. costaricense*, *C. cuscatae*, *C. fioriniae*, *C. godetiae*, *C. guajavae*, *C. indonesiense*, *C. johnstonii*, *C. kinghornii*, *C. laticiphilum*, *C. limetticola*, *C. lupini*, *C. melonis*, *C. nymphaeae*, *C. orchidophilum*, *C. paxtonii*, *C. phormii*, *C. pseudoacutatum*, *C. pyricola*, *C. rhombiforme*, *C. salicis*, *C. scovielli*, *C. simmondsii*, *C. sloanei*, *C. tamariolli*, *C. walleri*. Ezek közül mindössze egyetlen faj, a *C. pseudoacutatum* volt, amely a vizsgálatok alapján nem sorolható a *C. acutatum* fajkomplexbe. Ezek a fajok fenotípus tekintetében igen sokféleképpen bizonyultak. Egy részük bizonyos gazdanövényre specializálódott vagy adott földrajzi területekhez kötődött, míg mások polifág kórokozónak tekinthetők (**Damm és mtsai., 2012**). A *Colletotrichum* fajokra jellemző, hogy egyszerre több faj is jelen lehet ugyanazon a gazdanövényen, de ugyanez fordítva is igaz, tehát egyazon kórokozó több különböző növényt is képes megfertőzni (**Freeman és mtsai., 1998**).

2.3. Gazdasági jelentősége

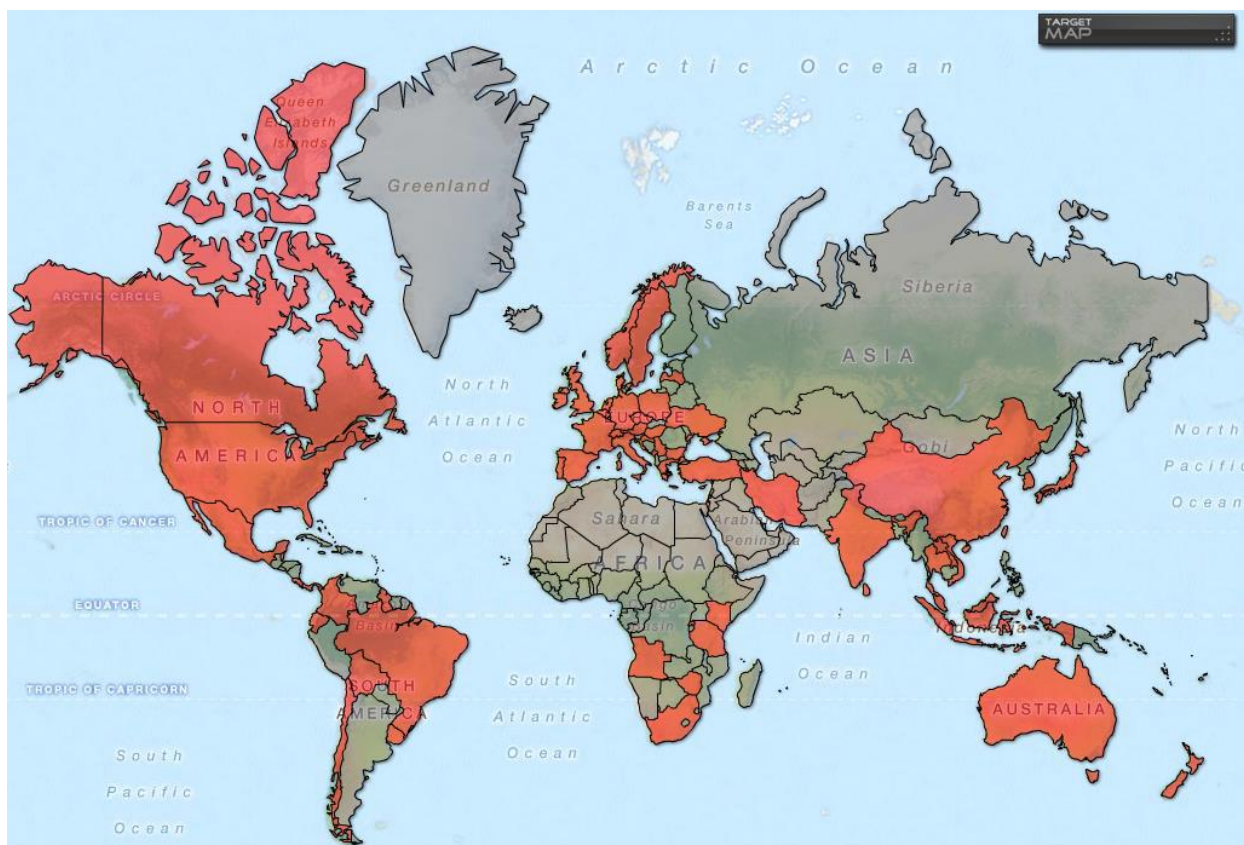
Dean és mtsai. (2012) adatai alapján a 10 legveszélyesebb kórokozó között a nyolcadik helyen a *Colletotrichum* fajokat tartják számon. A fajkomplexbe tartozó kórokozók jelentőségét

növeli, hogy képesek biotróf, nekrotrof és hemibiotrof életformát folytatni, valamint gazdanövény hiányában más növényeken – pl. gyomokon – is fennmaradni látens módon (**Baroncelli, 2012**).

A *C. acutatum* fajkomplex tagjai jelentős kozmopolita gombák. Mintegy 173 növény család különböző fajain jegyezték fel előfordulásukat. Trópusi és szubtrópusi növényeket, valamint termesztett kultúrnövényeket és gyomnövényeket is megbetegítenek (**Hyde és mtsai., 2009; Békési, 2013**). Gyakran izolálták egészségesnek látszó növényekről endofitaként és elhalt növényi részekből szaprofitaként. A *C. acutatum* gazdasági jelentősége két dologban rejlik. Az egyik, hogy gazdanövényköre nagyon széleskörű, folyamatosan újabb és újabb növényfajokról azonosítják a kórokozót. A kórokozó jelentőségének másik fontos oka, hogy a gazdanövényeken igen változatos tüneteket és jelentős károkat okoz. A tünetek gyakran a gyümölcsökön jelentkeznek antraknózis formájában, amelyek emiatt eladhatatlanná válnak. Mandula esetében nem csak az érett, hanem a fejlődésben lévő termések, valamint a virágok is megfertőződhetnek, azok idő előtti lehullását eredményezve (**Adaskaveg és Hartin, 1997**). A szamóca a legismertebb gazdanövényei közé tartozik. Ez esetben a gyümölcsfertőzésen túl gyökér- és hajtáselhalást is okozhat, mely az egész növény pusztulásához vezethet (**Freeman és mtsai., 2001b**). Franciaországban egy kémiai növényvédelemben nem részesülő szamócaállományban közel 80%-os termésrothadást okozott az antraknózis kórokozója (**Denoyes és Baudry, 1991**). Igen súlyos kártétel jelentkezhet, ha a már érőfélben lévő terméseken jelennek meg a tünetek (**Bailey és Jeger, 1992**). Némely gazdanövény esetében (alma, áfonya, meggy) nem csak a termesztés során okoz tüneteket, hanem a tárolás alatt is súlyos veszteségek keletkezhetnek (**Peres és mtsai., 2005; Børve és Stensvand, 2007**). Egy ausztrál tanulmány szerint a gomba 25-50%-os kiesést okozott a zellertermesztőknek (**Wright és Heaton, 1991**). Sri Lankán kaucsukfán súlyos lombhullást figyeltek meg a fertőzés következtében (**Jayasinghe és mtsai., 1997**). Floridai faiskolákban nevelt virágos som (*Cornus florida*) esetében palántadőlést, levélfoltokat, hajtáselhalást okozott a kórokozó (**Chellemi és mtsai., 1993; Strandberg, 2001**).

2.4. A kórokozó földrajzi elterjedése

A *Colletotrichum acutatum* fajkomplex tagjai világszerte elterjedtek (**1. ábra**). Az EPPO adatai szerint jelen vannak Afrikában, Észak- és Dél-Amerikában, Ázsiában, Ausztráliában, Óceániában és Európában is (**EPPO, 2013**).



1. ábra A *Colletotrichum acutatum* földrajzi elterjedése
(Forrás: <http://www.targetmap.com/viewer.aspx?reportId=17213>, 2016)

2.5. Gazdanövénykör

Legfontosabb gazdanövények között elsőként kell megemlíteni a szamócát (*Fragaria* × *ananassa*), aminek a szürkepenészes rothadást okozó *Botrytis cinerea* mellett ez a másik fő kórokozója. A nálunk is termesztett fajok közül ide sorolható még a cseresznye (*Prunus avium*), a meggy (*Prunus cerasus*), a mandula (*Prunus dulcis*), az alma (*Malus domestica*), a körte (*Pyrus communis*), a szilva (*Prunus domestica*), a szőlő (*Vitis vinifera*), a bodza (*Sambucus nigra*), a köszméte (*Ribes uva-crispa*), az áfonya (*Vaccinium corymbosum*), a tojásgyümölcs (*Solanum melongena*), a paprika (*Capsicum annuum*), a paradicsom (*Solanum lycopersicum*), a zeller (*Apium graveolens*) stb. (CABI, 2016; Pollok és mtsai., 2012.; Michel és mtsai., 2013.; Vichová és mtsai., 2013; Baroncelli és mtsai., 2014).

A fás-, illetve lágyszárú dísznövények közül leírták már juharról (*Acer palmatum*), fenyőfélékről (*Pinus* spp.), szellőrózsáról (*Anemone coronaria*) és muskátliról (*Pelargonium* spp.) is. A somfélék közül a virágos somról (*Cornus florida*) (Smith, 1993) azonosították korábban. Húsos somon Iránban figyeltek meg antraknózis jellegű tüneteket érett terméseken (Arzanlou és Torbati, 2013). A trópusi és mediterrán gyümölcsök közül pedig például mangóról (*Magnifera indica*), olíváról (*Olea europea* subsp. *europea*), citrusfélékről (*Citrus* spp.), papayáról (*Carica*

papaya), guaváról (*Psidium guajava*), kávéról (*Coffea arabica*), avokádóról (*Persea americana*) és datolyáról (*Phoenix dactylifera*) azonosították (CABI, 2016; EPPO, 2004; Irinyi és Kövics, 2008).

2.6. Tünetek

A *Colletotrichum acutatum* fajkomplex kórokozói által okozott tünetek igen változatosak, a gyökerek rothadásától kezdve, a levélhulláson, hajtás- és virágelhaláson át, a gyümölcsrothadásig (Wharton és Diéguez-Uribeondo, 2004). A legtöbb növény esetében a fertőzés az érőfélben lévő gyümölcsökön jelentkezik. A kezdeti tünetek a növény szövetébe süppedő, vizenyős léziók formájában jelennek meg (Cannon és mtsai., 2012). A foltokban idővel narancssárgás-barnás, nyálkás konídiummassza jön létre. A konídiumok az epidermisz alatti fekete, pontszerű acervuluszokban keletkeznek (EPPO, 2004; Irinyi és Kövics, 2008).

Leveleken okozott tünetek

Számos gazdanövény esetében levélfoltosságot figyelhetünk meg. A kaucsukfa (*Hevea brasiliensis*) fiatal levelein jellegzetes, koncentrikusan zónázott foltokat idéz elő a kórokozó (Jayasinghe és mtsai., 1997). A Rumohra páfrány (*Rumohra adiantiformis*) esetében már a kifejtetlen leveleken is megjelenik a tünet és eladhatatlanná teszi ezt a virágkötők számára fontos növényt (Norman és Strandberg, 2012). A szerzők szerint a levelek deformálódnak, nekrotizálódnak. Az acervuluszokban rózsaszínes-narancssárgás konídiummassza képződik. A fürtös áfonya (*Vaccinium corymbosum*) levelén kicsi, pirosas-barnás szegélyű, szürkésfehér közepű, kör alakú foltokat és súlyos levélhullást okoz a gomba (Yoshida és Tsukiboshi, 2002). Olajfán (*Olea europaea*) Sergeeva és mtsai. (2008) figyelték meg először a levélfertőzést. A foltok a levelek felső részén jelennek meg, a levelek szélén és a főér közelében, melyek barna színűek, szabálytalan alakúak és 1-3 cm-es nagyságúak. A foltokban acervuluszok jelennek meg, belőlük lazacszínű konídiummassza tör elő.

Több tanulmány is beszámol a levelek tünetmentes fertőződéséről: citromon (Zulfiqar és mtsai., 1996), szamócán (Leandro és mtsai., 2001; Mertely és Legard, 2004), szedren (Yoshida és Shirata, 1999), almán (Crusius és mtsai., 2002) és cseresznyén (Børve és mtsai., 2010). A tünetmentes levélfertőzés az inokulumképzés miatt jelentős, ugyanis a látenszen fertőzött növényi részekben a gomba konídiumokat is képez, mely fertőzési forrásként jelentősen növeli a járványok kialakulásának kockázatát (Børve és mtsai., 2010).

Gyümölcsökön okozott tünetek

A szamóca termésén eleinte világosbarna, vizenyős foltok láthatók, melyek idővel sötét színűvé válnak és a gyümölcshúsba süppednek. A tünetek érett és éretlen gyümölcsökön is megjelenhetnek. Ezekben a foltokban, a növény epidermisze alatt létrejött acervuluszokból származó konídiumok tömege figyelhető meg, amely nagy mennyiségben rózsaszínes vagy sárgásbarna színűek lehetnek. A beteg növényi szövetek sajátossága, hogy a fertőzés előrehaladtával megszilárdulnak, mumifikálódnak (**Peres és mtsai., 2005; Irinyi és Kövics, 2008**).

Áfonya esetében a bogyók mutatják a legnagyobb fogékonyságot a kórokozóra, melyek sebzés nélkül is fertőződhetnek (**Peres és mtsai., 2005**). A kezdeti tünetek először a virágzathoz közeli helyeken figyelhetők meg. A bogyókon jellegzetes besüppedő, sötét foltok alakulnak ki, majd idővel összeszáradnak. Fertőzés után rövid időn belül lazac színű konídium tömeg jelenik meg a terméseken, amely csapadékos időben az egészséges szemeket is fertőzi (**Wharton és Schilder, 2008**).

Meggy esetében a termésfertőzés az érés kezdetétől lehetséges, azonban **Børve és mtsai. (2010)** véleménye szerint a kórokozó – tünetmentesen – már a színeződés előtt, a zöld gyümölcsökön is jelen van. A termésen nem szükséges sebzésnek keletkeznie, a fertőzés egészséges bőrszöveten keresztül is végbemegy, mindössze csapadékra van szükség hozzá. Ezt követően, 1-2 nap elteltével a tünetek az érédo gyümölcsökön néhány milliméteres, besüppedő, barna színű, fénytelen foltokként jelennek meg (**Lehoczky, 1957**). A foltok folyamatosan növekednek, majd megjelennek az apró, fekete acervuluszok a jellegzetes rózsaszínű vagy narancssárga konídiummasszával együtt (**2. ábra**). Csapadékos időjárás esetén a fertőzött termések elrothadnak, száraz időben viszont a fákon maradva megkeményednek, összeaszalódnak, gyümölcsmúmiákká alakulnak, amelyek a következő vegetációs időszakban fertőzési forrást jelentenek.



2. ábra A meggyantraknózis kezdeti tünete (balra) és a foltokban megjelenő konídiummassza (jobbra) (Fotó: Petróczy, 2011)

Különösen veszélyes lehet, ha a kórokozó látens módon van jelen az érett terméseken, hiszen ilyenkor csak a szállítás vagy a tárolás során alakulnak ki a tünetek **(Børve és Stensvand, 2006a; Børve és mtsai., 2010)**.

Az alma tárolása során létrejövő fertőzés keserű rothadáshoz vezet **(Mari és mtsai., 2012)**. A 'Golden Delicious', 'Granny Smith', 'Pink Lady' és 'Crisp Pink' almafajták vizsgálata során olasz kutatók 1-3 cm közötti átmérőjű, egyre terjedő, besüppedő foltokat, léziókat írtak le. A gyümölcsök rothadni kezdtek, a beteg részeken termőtestek (acervuluszok) és belőlük kiszabaduló narancssárga konídiummassza jelent meg.

2.7. Biológiája

A *Colletotrichum* fajok változékonysága a fertőzési képességükben is megfigyelhető. Egyes növénykultúrákban (például: áfonya) a *Colletotrichum* fajok sebzés nélkül is képesek fertőzni a terméseket, míg más gazdanövényeknél (például: szőlő, szilva) csak egyes fajok voltak képesek, amelyek termeltek kutináz enzimet is **(Oros és mtsai., 2010)**.

Meggy esetében a legfontosabb fertőzési forrás a fertőzött gyümölcsök és a gyümölcsök kocsánya, amelyekben a kórokozó micéliummal teletel át **(DeMarsay és Oudemans, 2002)**. Tavasszal 12-18 °C-on az acervuluszok már elkezdik termelni a konídiumokat **(Børve és mtsai., 2010)**.

DeMarsay és Oudemans (2002) szintén igen jelentős fertőzési forrásként említi a rügyeket, ahol a kórokozó micéliummal marad fenn. A cseresznye rügyeiben is így tud áttelelni a gomba **(Børve és Stensvand, 2006a; Burak és Eris, 2008)**. **Børve és Stensvand (2006a)** azt is

megfigyelték, hogy a generatív rügyekben gyakoribb a kórokozó előfordulása, mint a vegetatívokban.

A konídiumok is képesek áttelelni. A telet jórészt a talajban vagy az elhalt növényi maradványokon vészelik át. Csírázókéességüket száraz, hideg körülmények között is hosszú ideig megőrzik (**Eastburn és Gubler, 1992**).

A megbetegített növényi részeken rendszerint jól láthatóak a gomba sötét színű termőteste. Az acervulusokban a konídiumok nagy mennyiségben képződnek és jellemzően vízcseppekkel terjednek (**Fitzell és mtsai., 1984; Yang és mtsai., 1992**). Az elsődleges konídium képzés a tenyészidőszakban az acervulusokban történik, bár a kórokozó képes a levelek felületén másodlagos konídiumképzésre is (**Leandro és mtsai., 2001**). **Børve és mtsai. (2010)** vizsgálatukban kimutatták, hogy a cseresznye levelein tüneteket nem okozva az egész vegetációban szaporodik a kórokozó, ami potenciális fertőzési forrás lehet. **Jertberg (2009)** tanulmányával igazolta, hogy a kórokozó nem minden esetben kolonizálja a növények szöveteit, csak a növény felületén telepszik meg és így sporulál. Ekkor a konídiumok (mikrociklikus konídium képzéssel) képesek akár további másodlagos konídiumot is fejleszteni (**Turechek és mtsai., 2006**).

A konídiumok a növény felszínén csíráznak, ahol appresszóriumokat képeznek, majd szívó hífákat (hausztóriumokat) fejlesztve behatolnak a növényi sejtekbe. Bár az infekció a növény bármely részén bekövetkezhet, a fertőzésre legérzékenyebb területek a fiatal hajtás csúcsok. Megfelelő élettani körülmények között a gomba nagyon gyorsan fejlődik és ezzel egy időben a tünetek is gyorsan megjelennek, ugyanakkor a gomba számára kedvezőtlen feltételek mellett a kórokozó sokáig látens, inaktív maradhat a növényen (**Jeffries és mtsai., 1990; Prusky és mtsai., 2000**).

Az ivaros termőtestet elsőként **Guerber és Correll (2001)** figyelte meg mesterséges körülmények között. Vizsgálataik során azt is észrevették, hogy különböző gazdanövényekről begyűjtött *C. acutatum* izolátumok önmeddők és kereszttermékenyítők is lehetnek. A természetben **Talgø és mtsai. (2007)** fürtös áfonya termésein figyelték meg az ivaros alak képződését. Arra azonban egyelőre nincs bizonyíték, hogy a kórokozó ivaros alakjának bármiféle jelentősége lenne a kórokozó biológiájában (**Peres és mtsai., 2005**).

2.8. A *Colletotrichum* fajok azonosítása

Damm és mtsai. (2012) szerint az egyes gombafajok azonosítására többféle módszer is rendelkezésre áll. Egyrészt vizsgálhatjuk a kórokozók morfológiáját: a hífákat, a konídiumtartót

és a konídiumokat – hosszúság, átmérő, szín, elágazódás, alak, barázdáltság, stb. tekintetében – a szeták meglétét, illetve hiányát, az apresszóriumok önálló vagy csoportos megjelenését, színét, alakját és méretét. A táptalajokon képzett tenyészetek esetében tanulmányozhatjuk azok átmérőjét, felületét, színét, növekedésük ütemét, stb. Másrészt azonosíthatjuk őket molekuláris módszerekkel. Utóbbi eljárások sokkal pontosabb eredményt adnak, mert a sokszor szubjektív, vagy esetleg változékonyságot mutató morfológiai bélyegekkkel szemben itt objektív adatok állnak rendelkezésre a fajok meghatározásához, illetve összehasonlításához (**Damm és mtsai., 2012**).

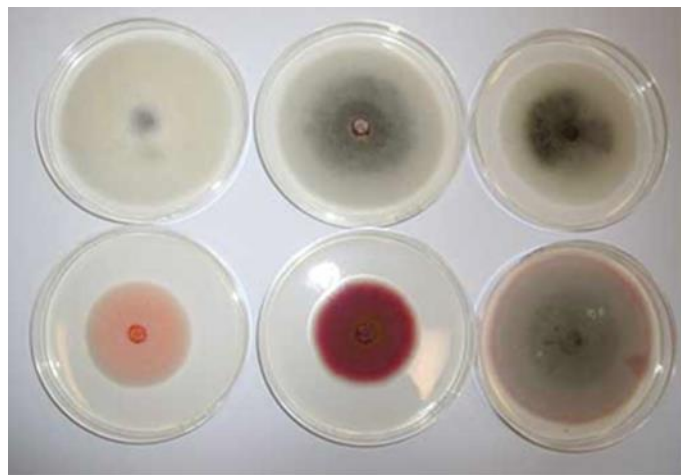
2.8.1. Azonosítás morfológiai és tenyészbélyegek alapján

A legelső morfológiai vizsgálatok szerint a *Colletotrichum acutatum* konídiumai egysejtűek, megnyúltak, végeik általában enyhén kihegyesedőek (**Simmonds, 1965**), amelyek a tüneteket mutató gazdanövényeken – nagy tömegben megjelenve – általában ragacsos, lazacszínű masszát alkotnak. A konídiumok acervuluszokban képződnek, amelyek átmérője nagyjából 0,5 mm, szeták pedig csak elvétve képződnek bennük (**EPPO, 2004**). **Damm és mtsai. (2012)** későbbi vizsgálataik során azonban fény derült a konídiumok fajon, illetve fajkomplexeon belüli változatosságára (**3. ábra**). A szerzők többféle konídium alakot figyeltek meg a fajkomplexeon belül, például elkülönítettek egy henger alakú konídiumokat képző csoportot is (**Damm és mtsai., 2012**). Ezen kívül különbségek fedezhetők fel az acervuluszokban és a légmicéliumon keletkezett konídiumok megjelenése között is (**Nirenberg és mtsai., 2002**). Mindezek alapján tehát a konídiumok morfológiája nem tekinthető stabil határozóbélyegnek a *C. acutatum* fajkomplexe esetében.



3. ábra A *Colletotrichum acutatum* fajkomplexebe tartozó fajok konídiumainak morfológiai változékonysága (N: *C. nymphaea*, O: *C. guajavae*, Q: *C. johnstonii*, R: *C. acutatum*, S: *C. fioriniae*, T: *C. godetiae*) (Forrás: **Damm és mtsai., 2012**)

A tenyészbélyegeket elsősorban a tenyészet kora és a táptalaj típusa befolyásolja (EPPO, 2004). PDA (Potato dextrose agar, burgonya-dextróz agar) táptalajon a tenyészet alapszíne a halványszürkétől, a sárgásbarnán át, a krémszínig változhat. A hosszabb időn át laboratóriumi körülmények között fenntartott tenyészetek megsötétednek. A tenyészetekben egyes esetekben rózsaszínes árnyalatot fedezhetünk fel. A Mycobank (2011) leírása szerint a fiatal tenyészetek kezdetben fehérek, majd narancssárgások, később pedig szürkés vagy fekete színűvé válnak, felületükön gyakori a légmicélium-képződés is. Peres és mtsai. (2005) azt figyelték meg, hogy különböző gazdanövényről származó izolátumok más-más színanyagot képeznek a táptalajon (pl.: meggyről származó izolátumok narancssárgások, az áfonyáról származók lilás-vöröses színűek). Sőt Talgø és mtsai. (2007) megfigyelése alapján gyakran egyazon gazdanövény fajról izolált tenyészetek színe különböző árnyalatokat vehet fel (4. ábra).



4. ábra Olivabogyóról származó *C. acutatum* izolátumok változatos tenyészbélyegei
(Forrás: <http://olivediseases.com/olive-diseases/anthracnose/>)

Bernstein és mtsai. (1995) különböző gazdanövényekről származó izolátumokat tanulmányoztak, melyeket két típusba soroltak a tenyészetek színe alapján: szürke és rózsaszín. McKay és mtsai. (2009) manduláról származó tenyészeteket vizsgáltak, amelyeket – többek között – ugyanezen szempont alapján kategorizáltak: rózsaszín, narancs, krém és szürke csoportokba. Ugyanígy, a tenyészetek színe (szürke és rózsaszín) és mintázata alapján osztotta két alcsoportra Adaskaveg és Förster (2000) az általuk begyűjtött izolátumokat a tenyészetek morfológiája alapján. Ezek az esetek jól tükrözik a *C. acutatum* fajkomplex változatosságát. Crouch és mtsai. (2009) vizsgálataikkal bizonyították, hogy a morfológiai bélyegek, valamint a gazdanövény-kórokozó összefüggések sok esetben félrevezetőek lehetnek a fajok azonosítása során.

2.8.2. Azonosítás molekuláris módszerekkel

A növénypatogén szervezetek kutatásában is nagy fordulat állt be, miután Karry Banks Mullis 1983-ban megalkotta a PCR-technológiát. Az addig meghatározó, hagyományos morfológiai vizsgálati módszerekről kiderült, hogy sok esetben nem elegendőek a kórokozó fajok – esetleg alfajok – meghatározásához. A kórokozók pontos ismerete azonban elengedhetetlen része a növényvédelemnek és a kultúrnövények rezisztencianemesítésének (**Freeman és mtsai., 1998**). Jelenleg a pontos és megbízható eredmények eléréséhez, valamint a fajok taxonómiai besorolásához leginkább a többlókuszos vizsgálatokat alkalmazzák, melyek megbízhatóbb eredményeket és helytállóbb filogenetikai feltételezéseket biztosítanak (**Begerow és mtsai., 2004; Cannon és mtsai., 2012**).

A *C. acutatum* fajkomplex rendszertani besorolása során a PCR módszer elterjedésével a nukleotid szekvencia vizsgálatok megoldást jelenthetnek a taxonómiai bizonytalanságokra (**Than és mtsai., 2008**). A kórokozó molekuláris azonosítása céljából többféle genomi régiót is tanulmányoztak különböző vizsgálatok során. **Guerber és mtsai. (2003)** a GAPDH (glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenáz) és GS (glutamin szintetáz) enzimet kódoló gének szekvenciáját használták a *C. acutatum* izolátumok azonosítására. Ezen kívül tanulmányozták még az aktin (ACT), kalmodulin (CAL), kitin szintetáz (CHS-1), szuperoxid diszmutáz (SOD2) és hiszton (HIS4) géneket is. A kalmodulin és a β -tubulin (TUB2), a TEF1 (transcriptional enhancer factor) és a COX1 (ciklooxigenáz) géneket más fajok azonosítása és jellemzése során is használják (**Cannon és mtsai., 2012**).

Cannon és mtsai. (2012) szekvencia vizsgálatokon alapuló munkájuk során kilenc *Colletotrichum* fajkomplexet és a hozzájuk tartozó fajokat határozták meg, köztük a *C. acutatum* fajkomplexet is. Ezen kutatás eredményeképpen is ugyanaz a 31 faj került a *C. acutatum* fajkomplexbe, amelyeket **Damm és mtsai. (2012)** is meghatároztak. Az egyetlen különbség az, hogy előbbinél a *C. orchidophilum*-ot csak testvér taxonként határozták meg. A *C. pseudoacutatum* itt is közeli rokonságot mutat a *C. acutatum* fajkomplexbe tartozó fajokkal, azonban mégsem sorolták a fajkomplexbe.

Molekuláris azonosítás az ITS régió alapján

Az ITS régió a riboszómális RNS-t kódoló DNS-en található szakasz, a 18S SSU (small subunit) és a 28S LSU (large subunit) gének között helyezkedik el. Tartalmazza az 5,8S gént és két nem kódoló régiót (ITS-a = ITS1 és ITS-B = ITS2). A gombák esetében az ITS régió nagyjából 650-900 bázispár méretű. Ez a szakasz többnyire állandónak tekinthető, így ideális univerzális

primerek tervezéséhez (**Tarbell, 2008**). Stabilitása mellett további előnye, hogy több példányban előfordul, könnyen amplifikálható és szekvenálható (**Samuelian és mtsai., 2011**). Jelenleg ez a legszélesebb körben vizsgált régió a növénypatogén gombák fajszintű azonosításánál, a legtöbb molekuláris – fajmeghatározásra irányuló – vizsgálat erre támaszkodik (**Tarbell, 2008**).

Talhinhas és mtsai. (2002) ITS alapú PCR vizsgálatokkal különítették el egymástól a *C. acutatum* és a *C. gloeosporioides* fajokat. Egy kísérletben 81 *C. acutatum* izolátum vizsgálata során **Denoyes-Rothan és mtsai. (2003)** két alcsoportot különítettek el, többek között az ITS2 szekvenciák alapján. Az egyik alcsoport – melyben az izolátumok kizárólag szamócáról származtak – nagyfokú homogenitást mutatott és az ITS2 szekvenciák is közel azonosak voltak. A másik alcsoport izolátumai a szamócán kívül számos más gazdanövényről származtak és az ITS2 szekvenciák is nagyobb változékonyságot mutattak. Maradtak azonban olyan izolátumok is, amelyeket egyik alcsoportba sem tudtak a szerzők besorolni, ez pedig már akkor a fajon belüli nagyfokú heterogenitásra engedett következtetni. **Liu és mtsai. (2011)** fajspecifikus primerek (CaInt2 és CgInt) valamint az ITS4 primer segítségével tettek különbséget a *C. acutatum* és *C. gloeosporioides* izolátumok között a célszekvenciák hosszúsága alapján (490 bp és 470 bp). **Crouch és mtsai. (2009)** szerint azonban az ITS alapú vizsgálatok csupán az egyes *Colletotrichum* fajkomplexek meghatározásához elegendőek, fajkomplexen belüli azonosításhoz kevésnek bizonyulnak.

Azonosítás a hiszton 3 gén alapján

A hiszton gének mindenütt jelen vannak az eukariótákban, 5 kicsi, erősen konzervált egységből állnak (H1, H2A, H2B, H3, H4). A kromatin (kromoszóma felépítője) legfőbb fehérjei (**Hentschel és Birnstiel, 1981**). A H3 fehérje jól konzervált, különösen az aminosavak szintjén, ezért is vizsgálták már sokan filogenetikai meghatározásokhoz (**Thatcher és mtsai., 1994**). A H3 hiszton géncsalád különösen fontos evolúciós elemzés szempontjából is (**Wells és mtsai., 1986**). **Polashock és Oudemans (2011)**, **Damm és mtsai. (2012)** és **Latinovic és mtsai. (2012)** végeztek vizsgálatokat a HIS3 génnel kapcsolatban.

Azonosítás a kalmodulin gén alapján

A kalmodulin minden eukarióta sejtben jelenlévő erősen konzervált kalciumkötő fehérje. Részt vesz számos Ca^{2+} függő folyamatban beleértve a szignál transzdukciót, a sejtmozgást és a jelátvitelt (**Cohen és Klee, 1988; James és mtsai., 1995**). Egy farmakológiai kísérletben már korábban kimutatták, hogy a kalmodulin-antagonisták gátolták a spórák csírázását, az

apresszórium képződését és a megbetegítő képességet (**Warwar és Dickman, 1996**). Ezt a gént **Prihastuti és mtsai. (2009)** valamint **Chen és Li (2010)** is vizsgálták.

2.9. Az antraknózis kórokozója elleni növényvédelem lehetőségei

A *Colletotrichum* fajok elleni növényvédelemben lehetőség nyílik a rezisztens fajták, az agrotechnikai módszerek, a kémiai növényvédelem és a biológiai növényvédelem, ill. ezek kombinációjának alkalmazására is. A növényvédelmi technológia alkalmazhatóságát a gazdanövény tulajdonságai legalább annyira befolyásolják, mint a kórokozó, amely ellen a növényvédelem irányul (**Wharton és Diéguez-Uribeondo, 2004**).

2.9.1. A fajták ellenállósága és fogékonysága

Az antraknózis kártétele a megfelelő fajta kiválasztásával mérsékelhető (**Jertberg, 2009**). **Oros és mtsai. (2010)** szerint vannak az antraknózissal szemben toleráns meggyfajták (például a 'Pipacs'), azonban a felvásárló piac kedvelt fajtái fogékonyak a betegségre (például a 'Kántorjánosi' és az 'Érdi bőtermő'), így a belőlük létesített ültetvényekben rendszeresen járvány alakul ki. Utóbbi fajtánál egy kísérlet során 80-85%-ra tehető termés veszteséget okozott az antraknózis, míg a 'Pipacs' fajtánál csak egy-egy termésen találtak tünetet. Ez arra utal, hogy az antraknózissal szemben létezik genetikailag meghatározott ellenállóság. Külföldön szelektáltak ellenálló cseresznye fajtákat az antraknózissal szemben ('Catalina', 'Golia', 'Marina', 'Mária' és 'Van'), melyek ezen kívül nagy terménymennyiséggel és kiemelkedő szárazságtűréssel is rendelkeznek (**Grădinariu és mtsai., 2008**).

A kutikula és sejtfal vastagsága befolyásolja a *Colletotrichum* fajok elleni védekezést (**Gomes és mtsai., 2011**). A szerzők olajbogyó esetében figyelték meg, hogy az antraknózis kórokozója kevésbé tudott fertőzni, ha a termés kutikulája vastagabb volt. A legtöbb termés érésakor a kutikula vastagsága csökken, így fogékonyságuk is megnövekszik, hasonlóan egyes fenolokat és flavonoidokat termelő gyümölcsöknél. Érés közben ezeknek az anyagoknak a mennyisége csökkenhet és ezért ezek a gyümölcsök újra érzékennyé válnak (**Gomes és mtsai., 2011**). Hazánkban már **Lehoczky (1959)** is felhívta a figyelmet a kutikula vastagsága és a fogékonyság közötti összefüggésre. A kórokozó a vékony gyümölcshéjú meggyfajtákon (pl. 'Pándy' típusú) csapadékos időben nagyon súlyos kártételt tud okozni (**Holb, 2005**). A szerző szintén említi, hogy a puha húsú cseresznye fajták ('Noszvaji') fogékonyak, míg a ropogós, kései érésű fajták ('Germersdorfi óriás') kevésbé érzékenyek a betegségre. **Glits (2000)** szerint a

'Pándy' üvegmeleggy és a 'Cigánymeggy' fogékony a betegségre. **Kloutvorová és mtsai. (2004)** 'Újfehértói fürtös' fajtánál 50%-os, 'Érdi bőtermő' estében több mint 15%-os termés kiesésről számolnak be.

Turechek és mtsai. (2006) fertőzött terméseket vizsgálva megállapították, hogy az éretlen terméseken kevesebb inokulum jelent meg, mint a teljes érésben levőkön. Ezzel ellentétben, egyes esetekben a termések rezisztenssé válnak *Colletotrichum* fajokkal szemben, az érési folyamat végére (**Jertberg, 2009**).

Nemesítési források értékelésekor érdemes figyelembe venni azokat az egyedeket, amelyek polifenolokat termelnek. Ezek az anyagok ugyanis egyes *Colletotrichum* törzsek micélium növekedését hatékonyan gátolják. Nem tisztázott ugyan, de lehetséges, hogy ezzel is növelni lehetne a fajták ellenállóságát (**Oros és mtsai., 2010**). Egyes növénykultúrákban már elkezdtek keresni a nemesítésbe vonható ellenálló fajtákat. Szőlőnél az antraknózis ellen az úgynevezett „amerikai-hibrideket” kezdték el vizsgálni. Azonban itt sem tekinthető egységesen rezisztensnek az összes hibrid. A poligénes öröklődés miatt a hibridek szelekciójára van szükség (**Shiraishi és mtsai., 2007**).

Későbbi vizsgálatok során jelentős lehet, a *C. acutatum* PacC^{KLAP2} génjének szerepe az antraknózisra érzékeny fajtáknál. Ez a gén a környezet pH viszonyaira specifikus génexpresszióval válaszol. Azonban ha ez a gén nem működik megfelelően, akkor a kórokozó sokkal érzékenyebb a környezeti hatásokra, valamint nem tud kutináz enzimet termelni, mely kiemelt jelentőségű gyümölcsfertőzés során (**You és mtsai., 2007**).

2.9.2. Agrotechnikai és mechanikai védelem

Bármely kórokozó elleni növényvédelem esetén a legfontosabb lépés a prevenció. Ez magában foglalja a gyümölcsmúmiák, a fertőzött gyümölcskocsányok, száradó termőnyársak eltávolítását, valamint a szellős lombkorona kialakítását (**Körtvély és Véghelyi, 1974**). **Holb (2005)** is hangsúlyozza a primer fertőzési források megszüntetésének fontosságát. Lehetőség szerint a metszések során gyűjtsük össze és semmisítsük meg a fán maradt fertőzött gyümölcsmúmiákat, gyümölcskocsányokat, a földre hullt fertőzött növénymaradványokat pedig forgassuk a talajba. Metszéssel elő lehet segíteni az álló kultúrákban a szellősebb koronát, ami felgyorsítja csapadékos időben a növényállomány száradását, rövidebb idejű felületi nedvességet. **Verma (2005)** ezt azzal egészíti ki, hogy a permetezéseket és az öntözést is reggel érdemes elvégezni, hogy a levelek felülete megszáradhasson. Washington államban végzett kísérlet során metszéssel eltávolították a beteg részeket és gyümölcsöket, ezáltal 50%-kal csökkentették az antraknózis kártételét. A fertőzött területeken végzett munkák után, az eszközök tisztítása is segít

abban, hogy ne hurcolják tovább a kórokozót. Érdekes odafigyelni arra, hogy az érett terméseken a kórokozó gyorsabban fejlődik, így érdemes a szüretet mihamarabb elvégezni és célszerű a termést minél előbb betárolni. Megfigyelték, hogy ha a termés 2 órán belül hűtött körülmények közé került, kevesebb gyümölcsön alakult ki tünet (**Verma, 2005; Verma és mtsai., 2006**).

A konídiumok túlélését az öntözési rendszer típusa is befolyásolja. **Freeman és mtsai. (2001b)** az esőztető és csepegtető öntözőrendszereket vizsgálta kísérletében. A konídiumok az esőztető öntözőrendszerekkel jobban terjedtek, a csepegtető öntözőrendszerek használata mellett, az inokulum mennyisége harmadára, illetve felére csökkent. **Jertberg (2009)** szerint a talajon felhalmozódott inokulum mennyisége megfelelő talajmunkával csökkenthető.

2.9.3. Kémiai növényvédelem

Ayliffe és mtsai. (2001) szerint a *Colletotrichum acutatum* olyan kórokozó, amely kevésbé érzékeny a fungicidekre, ami még bonyolultabbá teszi az ellene való hatékony védekezést. A *Colletotrichum* fajok okozta betegségek ellen azonban, széles körben állnak rendelkezésre hatóanyagok a kémiai növényvédelemre: a réz-tartalmú hatóanyagok, ditiokarbamátok, benzimidazol és triazol származékok, és más egyéb fungicidek pl. klórtalonil, imazalil és prokloráz (**Waller, 1992**). A strobilurinok (azoxistrobin és piraklostrobin) szintén nagyon hatékonyak a gyümölcsöt fertőző *Colletotrichum* fajokkal szemben (**Schilder és mtsai., 2001**), bár számolnunk kell a rezisztencia gyors kialakulásával. Kiemelkedő jelentősége van a kémiai növényvédelemben a kezelések időzítésének. A fungicideket az intenzív növekedés időszakában kell kijuttatni, mind a levelek, mind a virágok, mind a gyümölcsök esetében (**Fitzell és mtsai., 1984**). Az intenzív gyümölcsnövekedés és a fungicidek csapadék miatti lemosódása megnehezíti a növényvédelmet és szükségessé teszi az ismételt kezelést (**Fitzell és Peak, 1984**). Sőt a rosszul időzített permetezés akár növelheti is a megbetegedés mértékét, megzavarva a növény természetes védekezési mechanizmusát (**Griffiths, 1981**).

Adaskaveg és Förster (2000) valamint **Schilder (2002)** az áfonya és mandula antraknózisa elleni hatásvizsgálatok során a következő hatóanyagokat találták megfelelőnek: fozetil-Al (Aliette), kaptán (Captan), benomil (Benlate), klórtalonil (Bravo), ziram (Ziram), fenbukonazol (Indar 75WP), miklobutanil (Rally 40WP), tiofanát-metil (Topsin 75WP), azoxistrobin (Abound) és piraklostrobin (Cabrio). **Adaskaveg és Förster (2000)** a növényvédelmi technológia során a rezisztencia kialakulásának elkerülésére a különböző hatóanyagok rotációját javasolja. A növényvédelmi kezelések száma csökkenthető, ha a technológia előrejelzési modellre épül, ahogy ez a citrusfélék antraknózisa esetében már bevezetésre került (**Timmer és Brown, 2000**).

Paredes és Muñoz (2002) számos gombaölő szer hatását értékelték *C. acutatum* ellen. A fungicidek közül a propikonazol, bitertanol, imazalil és a hexakonazol 0,5; 1 és 2 ppm koncentrációban alkalmazva legalább 50%-ban gátolta a kórokozó micéliumának növekedését. **Freemann és mtsai. (1997)** vizsgálatokat végeztek a következő hatóanyagok bevonásával: kaptán (Merpan 50WP), folpet (Folpan 50WP), prokloráz-Zn (Mirage 50WP), prokloráz-Mn (Octave 50WP), prokloráz-Zn+folpet (Mirage-F 15WP és 60WP), propikonazol (Tilt 25EC), difenokonazol (Score). Laboratóriumi körülmények között legalább 50%-ban gátolta a kórokozót a folpet, kaptán, difenokonazol, propikonazol, a prokloráz-Zn és folpet kombináció, valamint a prokloráz-Zn és a prokloráz-Mn. Az *in vivo* vizsgálatok során a leghatékonyabbnak a két prokloráz hatóanyag, legkevésbé hatékonyak a difenokonazol bizonyult **(Freemann és mtsai., 1997)**. **LaMondia (1995)** kísérleteiben a benomil és más benzimidazol származékok a kórokozó ellen hatástalannak bizonyultak.

A kórokozó elleni védekezésben jelentős szerepe van több különböző kultúrában a benzimidazolnak és a diethofenkarbnak keverékben használva a tiofanát-metillel vagy az iminoktadine-triacetáttal **(Chung és mtsai., 2006)**. A szerzők vizsgálataikban megállapították, hogy az általuk vizsgált kórokozó kevésbé volt érzékeny a három fungicidre: tiofanát-metil (ED₅₀: 1-10 mg/liter), diethofenkarb (ED₅₀: >100 mg/l), iminoktadin-triacetát (ED₅₀: 100-1000 mg/l). A *C. acutatum* esetében már több szerző is leírta, hogy a benomil és a diethofenkarb hatóanyagoknál csökkent érzékenységet, toleranciát és rezisztenciát is mutatnak az izolátumok. **Fukaya (2001)** szőlőben talált két olyan izolátumot, amelyek kevésbé voltak érzékenyek az iminoktadine-triacetátra.

Turechek és mtsai. (2006) a piraklostrobin (168 g/ha) hatóanyagot vizsgálták. A készítmény hatását akkor tudta leginkább kifejteni, ha a nedves körülmények (amely maximum 24 óráig tartott) után 3 órával került kijuttatásra. A hatóanyag számára az optimális hőmérséklet 22 és 30 °C között volt. 14 °C-on már hatástalannak bizonyult, a szerző hozzáteszi azonban, hogy ezen a hőmérsékleten a *C. acutatum* is vontatottan fejlődik. A strobilurinok gátolják a spórák csírázását, ezért megfelelőek lehetnek a preventív védekezés során. Szamóca kultúrában a palántákat gyakran strobilurinos mártogatással kezelik, hogy csökkentsék a látens inokulum bekerülését a természetű közegbe **(Jertberg, 2009)**. Strobilurinok közül antraknózis ellen a trifloxistrobin hatóanyagot javasolják egyes szerzők tebukonazollal keverve **(Schloemann és mtsai., 2010-2011)**. A szerzők által kiemelt, megelőző védekezésben használható hatóanyag még a kaptán, melyet tiofanát-metillel érdemes kiegészíteni. **Ivanovia és mtsai. (2007)** a kaptán (2,5 l/ha) hatóanyagot önmagában is sikeresen tudták használni az antraknózis elleni védekezésben. Ajánlásuk szerint a kaptán, illetve a thiram tartalmú növényvédő szereket akár hetente is érdemes alkalmazni. A piraklostrobint a szerző szerint metiram (kombináció 2,0 kg/ha) hatóanyaggal

érdemes kiegészíteni **Turechek és mtsai. (2006)** véleményével ellentétben. Vizsgálataiban a szerző megerősíti a benomil (1,0 kg/ha) hatástalanságát, melyet kiegészített krezoxim-metillel (0,2 kg/ha) is.

Wedge és mtsai. (2007) három kórokozó – köztük a *C. acutatum* – ellen vizsgáltak különböző hatóanyagokat. Két kezelést végeztek 7 napos permetezési fordulóval. A következő fungicidekkel érték el szignifikánsan jobb eredményt a kezeletlen kontrollhoz képest: piraklostrobin+boscalid, ciprodinil+fludioxonil, azoxistrobin+kaptán, azoxistrobin, fenhexamid+kaptán. A tiofanát-metil nem csökkentette a gyümölcsrohadás mértékét a beállított kísérletekben. A szerzők továbbá felhívják a figyelmet a fungicidek rotációjának fontosságára, elkerülve ezzel a rezisztencia kialakulását. **Verma (2005)** szerint *C. acutatum* ellen megfelelő hatóanyagok a következők lehetnek: fozetil-Al (preventív), fluazinam (preventív+eradikatív), klórtalonil (preventív), piraklostrobin (preventív+kuratív), ciprodinil és fludioxonil (kuratív) virágzáskor, valamint boszkalid és piraklostrobin (preventív+kuratív). Ezek a hatóanyagok eddig jól beváltak áfonyatermesztésben.

A permetezések időzítése kiemelt fontosságú. **Verma és mtsai. (2006)** szerint rügy differenciálódáskor kell a kezeléseket végrehajtani, mert ilyenkor a fiatal szövetek fokozottan érzékenyek az antraknózisra. **Verma (2005)** is kiemeli egyrészt a szer rotáció fontosságát, mert a kórokozónál hamar megjelenhet a tolerancia vagy a rezisztencia; másrészt, ha nagy az infekciós nyomás, akkor a legnagyobb dózist kell kijuttatni.

Børve és Stensvand (2006b) cseresznye és meggy antraknózisa ellen a ditianon hatóanyag kétszeri kijuttatását találták a leghatékonyabbnak a gyümölcsnövekedés során. Megfigyeléseik szerint a három permetezés nem csökkentette nagyobb mértékben a fertőzöttség mértékét, mint a kétszeri kezelés. **Kloutvorová és mtsai. (2004)** kísérletei alapján a tebukonazol hatóanyagú Horizon 250 EW jó hatékonysággal bírt szedés előtt 14 és 7 nappal alkalmazva.

2.9.4. Biológiai növényvédelem

Freeman és mtsai. (2004) különböző *Trichoderma* fajokat vizsgáltak, melyek *in vitro* hatásosnak bizonyultak a gombával szemben. A *Trichoderma harzianum* alkalmazhatóságát tesztelték **Živković és mtsai. (2010)**. Véleményük szerint az antagonista szervezet alkalmas lehet a védekezésre. A szerzők vizsgálták továbbá a *Gliocladium roseum*, *Streptomyces noursei*, *Streptomyces natalensis*, *Bacillus subtilis* antagonista szervezeteket is. Eredményeik alapján a *Streptomyces* fajok antagonista hatása a legerősebb. **Cho és mtsai. (2003)** a *Bacillus subtilis* KS03-as törzsét találták alkalmasnak a kórokozó elleni biológiai növényvédelemre. **Verma és mtsai. (2006)** kísérleteket végeztek két biológiai növényvédelemben használt készítménnyel. Az

egyik a *Gliocladium catenulatum* J1446 törzsét tartalmazó Prestop, míg a másik készítmény a PlantShield néven forgalomban levő *Trichoderma harzianum* T22-es törzse volt. Áfonya 'Bluecrop' fajtán próbálták ki az antagonisták hatékonyságát, vizes szuszpenzióként kijuttatva. A kezeléseket a virágzás kezdete és a teljes gyümölcserés közötti időszakban végezték háromszori kijuttatással. A kísérlet eredményesnek bizonyult, hiszen akár 45%-al is csökkent a fertőzött gyümölcsök száma **(Verma és mtsai., 2006)**.

A *Trichoderma harzianum* törzset tartalmazó biológiai fungicid antraknózis elleni hatékonyságát vizsgálták hazánkban is, mely a termés beltartalmára is kedvezően hatott **(Oros és mtsai., 2010)**. A szerzők szerint, a keverékben alkalmazott a *Trichoderma* törzsek hatékonysága jobb volt.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. A vizsgálat helye és ideje

Az antraknózis tüneteit mutató terméseket 2010 és 2013 között gyűjtöttük be magyarországi ültetvényekből, a Budapesti Corvinus Egyetem (Jogutódja: 2016. január 1. től: Szent István Egyetem) soroksári tangazdaságából, magángyűjteményekből, házikertekből és Budapest egyik piacáról.

A tünetmentes meggyleveleket Sóskúton, Soponyán és Lajosmizsén gyűjtöttük 2012-ben, olyan ültetvényekben, ahol a terméseken az előző években megjelent az antraknózis. A fajták fogékonyságának vizsgálatához a különböző fenológiai fázisú meggyterméseket 2013 májusától 2013 júniusáig gyűjtöttük, Kiskunmajsárról egy termőültetvényből és Kecskemétről, a Kecskeméti Főiskola, Kertészeti Karának, Tangazdaságából.

Az izolátumok azonosítását, valamint a patogenitási teszteket a Budapesti Corvinus Egyetem (Jogutódja: Szent István Egyetem) Növénykórtani Tanszékének laboratóriumában végeztük. A PCR termékeket és a rekombináns plazmidokat szekvencia meghatározásra a szegedi BAY-GEN Növénygenomikai, Humán Biotechnológiai és Bioenergiái Intézetbe küldtük.

A növényvédő szerek és termésmnövelő anyagok hatását *in vitro* Tanszékünk laboratóriumában teszteltük 2010 és 2012 között. A hatékonyak bizonyult növényvédő szereket és termésmnövelő anyagokat *in vivo* 2 helyszínen vizsgáltuk 2012-ben és 2013-ban:

- Sóskúton, a Sóskút Fruct Kft. 1998-ban telepített meggyültetvényében, ahol 3 ha-on állították be a kezeléseket, valamint
- Kiskunmajsán a Bíbor Meggytermelő és Értékesítő Kft. jó kondíciójú meggyültetvényében, ahol 33 fából álló parcellákon végezték el a növényvédelmi kezeléseket.

3.2. A vizsgálat anyaga

3.2.1. Izolátumok

Összesen 56 izolátumot vizsgáltunk, melyek az ország különböző részeiről származtak, kivéve az A39-es izolátumot, mely Ecuadorból importált banánról származik (**1. táblázat**). A gazdanövénykört tekintve az izolátumok nagyobb része különböző meggyfajtákról származik (36 db termésekről; 7db levelekről), de gyűjtöttünk mintát cseresznyéről (1db), szamócáról (4 db), almáról (1 db), áfonyáról (1 db), banánról (1 db), fügéről (1 db), paradicsomról (1 db), somról (2

db) és szőlőről (1 db) is. A0-val jelöltük azokról a 60 éves meggytermésekről származó kórokozót, melyek formalinos-réz szulfátos oldatban tartósított vizes preparátumban elhelyezve évtizedek óta szolgáltak oktatási anyagként a Növénykórtani Tanszéken. Az antraknózis tüneteit mutató meggyeket, még maga Dr. Lehoczky János gyűjtötte az ország keleti részéről (**Dr. Folk Győző, 2013 szóbeli közlés**).

1. táblázat Az izolátumok neve, gazdanövénye, a gyűjtés helyszíne és éve

Izolátum neve	Gazdanövény	Növényi rész	Gyűjtés helyszíne	Gyűjtés éve
A0	<i>Prunus cerasus</i>	termés	Magyarország keleti része	1956
A1	<i>Prunus cerasus</i> 'Újfehértói fürtös'	termés	Hajdúdorog	2010
A2	<i>Prunus cerasus</i> 'Újfehértói fürtös'	termés	Sóskút	2010
A3	<i>Prunus cerasus</i> 'Újfehértói fürtös'	termés	Kistelek	2011
A4	<i>Prunus cerasus</i> 'Érdi bőtermő'	termés	Kistelek	2011
A5	<i>Prunus cerasus</i> 'Újfehértói fürtös'	termés	Lajosmizse	2011
A6	<i>Prunus cerasus</i> 'Kántorjánosi'	termés	Kiskunmajsa	2011
A7	<i>Prunus cerasus</i> 'Fanal'	termés	Újfehértó	2011
A8	<i>Prunus cerasus</i> 'Kántorjánosi'	termés	Soroksár	2011
A9	<i>Prunus avium</i>	termés	Soroksár	2011
A10	<i>Prunus cerasus</i> 'Kántorjánosi'	termés	Soroksár	2011
A11	<i>Prunus cerasus</i> 'Oblacsinszka'	termés	Újfehértó	2011
A12	<i>Prunus cerasus</i> 'Újfehértói fürtös'	termés	Sóskút	2011
A13	<i>Prunus cerasus</i> 'Újfehértói fürtös'	termés	Soponya	2011
A14	<i>Prunus cerasus</i> 'Kántorjánosi'	termés	Nyíregyháza	2011
A15	<i>Prunus cerasus</i> 'Kántorjánosi'	termés	Nyíregyháza	2011
A16	<i>Cornus mas</i>	termés	Bársonyos	2011
A17	<i>Vaccinium myrtillus</i>	termés	Csepreg	2011
A18	<i>Ficus carica</i>	termés	Gödöllő	2011
A19	<i>Malus domestica</i> 'Jonathan'	termés	Budapest (tárolás)	2012
A20	<i>Fragaria x ananassa</i> 'Asia'	termés	Lajosmizse	2012
A22	<i>Prunus cerasus</i> 'Érdi bőtermő'	termés	Soponya	2012

Izolátum neve	Gazdanövény	Növényi rész	Gyűjtés helyszíne	Gyűjtés éve
A23	<i>Prunus cerasus</i> 'Érdi jubileum'	termés	Soponya	2012
A24	<i>Prunus cerasus</i> 'Újfehértói fürtös'	termés	Soponya	2012
A25	<i>Prunus cerasus</i> 'Újfehértói fürtös'	termés	Sóskút	2012
A26	<i>Prunus cerasus</i> 'Újfehértói fürtös'	termés	Sóskút	2012
A27	<i>Prunus cerasus</i> 'Újfehértói fürtös'	termés	Nagykálló	2012
A28	<i>Prunus cerasus</i> 'Érdi bőtermő'	termés	Nagykálló	2012
A29	<i>Prunus cerasus</i> 'Kántorjánosi'	termés	Nagykálló	2012
A30	<i>Prunus cerasus</i> 'Érdi bőtermő'	termés	Tiszalök	2012
A31	<i>Prunus cerasus</i> 'Érdi bőtermő'	termés	Tiszadada	2012
A32	<i>Prunus cerasus</i> (fajta nem ismert)	termés	Újfehértó	2012
A33	<i>Prunus cerasus</i> 'Újfehértói fürtös'	termés	Agárd	2012
A34	<i>Prunus cerasus</i> 'Cigánymeggy'	termés	Diósd	2012
A35	<i>Prunus cerasus</i> 'Érdi bőtermő'	termés	Orgovány	2012
A36	<i>Prunus cerasus</i> 'Cigánymeggy'	termés	Révfülöp	2012
A37	<i>Lycopersicon lycopersicum</i>	termés	Kecskemét	2012
A38	<i>Cornus mas</i>	termés	Kecskemét	2012
A39	<i>Musa x paradisiaca</i>	termés	Ecuador	2013
A40	<i>Prunus cerasus</i> (fajta nem ismert)	termés	Hollandia	nem ismert
A41	<i>Prunus cerasus</i> (fajta nem ismert)	termés	K-Magyarország	nem ismert
A42	<i>Prunus cerasus</i> 'Újfehértói fürtös'	termés	Újfehértó	2013
A43	<i>Fragaria x ananassa</i>	termés	Lajosmizse	2013
A44	<i>Prunus cerasus</i> 'Debreceni bőtermő'	termés	Újfehértó	2013
A45	<i>Prunus cerasus</i> 'Újfehértói fürtös'	termés	Palkonya	2013
A46	<i>Prunus cerasus</i> 'Újfehértói fürtös'	termés	Lajosmizse	2013
A47	<i>Fragaria x ananassa</i> 'Asia'	termés	Jakabszállás	2013
A48	<i>Fragaria x ananassa</i> 'Clarie'	termés	Jakabszállás	2013
A49	<i>Vitis vinifera</i> 'Pannónia Kincse'	termés	Püspökladány	2013
A_L1	<i>Prunus cerasus</i> 'Érdi jubileum'	levél	Soponya	2012

Izolátum neve	Gazdanövény	Növényi rész	Gyűjtés helyszíne	Gyűjtés éve
A_L2	<i>Prunus cerasus</i> 'Érdi jubileum'	levél	Soponya	2012
A_L3	<i>Prunus cerasus</i> 'Érdi jubileum'	levél	Soponya	2012
A_L4	<i>Prunus cerasus</i> 'Újfehértói fürtös'	levél	Lajosmizse	2012
A_L5	<i>Prunus cerasus</i> 'Újfehértói fürtös'	levél	Lajosmizse	2012
A_L6	<i>Prunus cerasus</i> 'Újfehértói fürtös'	levél	Lajosmizse	2012
A_L7	<i>Prunus cerasus</i> 'Újfehértói fürtös'	levél	Lajosmizse	2012

3.2.2. Növények

Patogenitási tesztekhez

Az izolátumok megbetegítő képességének igazolásához érett alma-, áfonya-, banán-, cseresznye-, füge-, meggy-, paradicsom-, som -, szamóca- és szőlőterméseket használtunk.

A fajták fogékonyságának vizsgálatához

A fajták fogékonyságának vizsgálatához – a fenológiai fázis függvényében – ‘Debreceni bőtermő’, ‘Érdi bőtermő’, ‘Érdi jubileum’, ‘Kántorjánosi’ és ‘Újfehértói fürtös’ fajtákat használtuk fel. A kecskeméti fajtagyűjteményből 12 fajtát fertőztünk laboratóriumi körülmények között: ‘Cigánymeggy 7’, ‘Cigánymeggy 57’, ‘Debreceni bőtermő’, ‘Érdi bőtermő’, ‘Érdi jubileum’, ‘Favorit’, ‘Kántorjánosi’, ‘Maliga emléke’, ‘Pándy’, ‘Pipacs’, ‘Piramis’ és ‘Újfehértói fürtös’.

Tünetmentes meggylevelek vizsgálatához

A tünetmentes meggyleveleket a gomba biológiájának vizsgálatához 'Újfehértói fürtös' és 'Érdi Jubileum' fajtákról gyűjtöttük.

In vivo kisparcellás és nagyparcellás kísérletekhez

Kiskunmajsán a Bíbor Meggytermelő és Értékesítő Kft. ültetvényében 'Kántorjánosi' fajtán vizsgáltuk a növényvédő szerek és termésmnövelő anyagok hatékonyságát. Sóskúton a Sóskút Fruct Kft. ültetvényében 'Újfehértói fürtös' és 'Érdi bőtermő' fajtákon végeztük a kísérleteket.

3.2.3. Indítószekvenciák

A molekuláris azonosítás során olyan univerzális indítószekvenciákat használtunk a polimeráz reakció során, melyek a kórokozók 18S rRNS gén egy részét, az ITS1 régiót, az 5,8S rRNS gént, az ITS2 régiót és a 28S rRNS kódoló gén egy részét sokszorozzák meg:

ITS5: 5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3' (White és mtsai., 1990)

NL4: 5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3' (O'Donnell, 1993).

A hiszton 3 gén vizsgálatához a C.A.Histone3.for és a C.A.Histone3.rev primereket (Crous és mtsai, 2004), a kalmodulin gén vizsgálatához a CA_CAL1 - CA_CAL2 primerpárt használtuk (O'Donnell és mtsai., 2000).

C.A.Histone3.for: 5'-AGGTCCACTGGTGGCAAG -3'

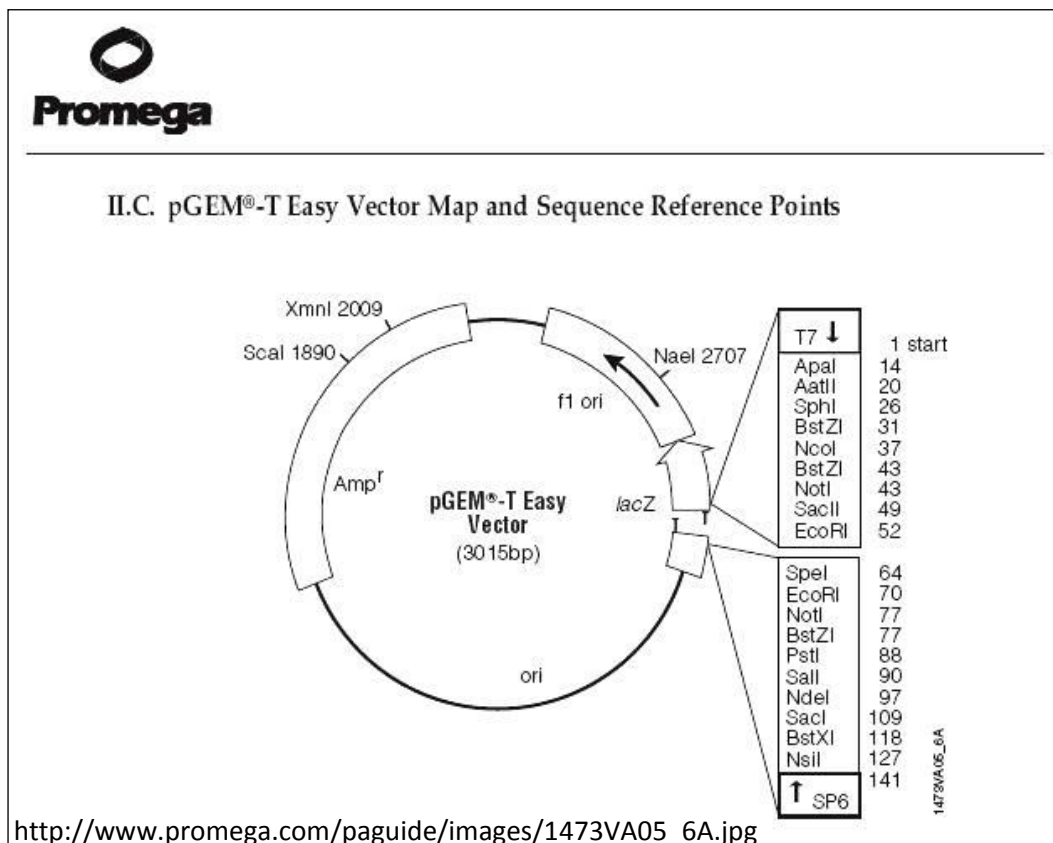
C.A.Histone3.rev: 5'-AGCTGGATGTCCTTGGACTG -3'

CA_CAL1: 5'-TGAGTACAAGGAGGCCTTCTCCC -3'

CA_CAL2: 5'-TTTTTGCATCATGAGTTGGACGAACTC -3'

3.2.4. Plazmid és baktérium törzs klónozáshoz

Bizonyos esetekben (pl. alacsony koncentráció esetén) a tisztított PCR termékeket a 3015 bázispár hosszúságú pGEM-T Easy plazmidba (Promega) ligáltuk (5. ábra). A PCR-termékek klónozáshoz az *Escherichia coli* baktérium DH 5- α és JM 109-es törzsét használtuk fel.



5. ábra A pGEM-T Easy Vektor felépítése

3.2.5. Táptalajok, enzimek, kitek

Táptalajok

A kórokozók izolálásához, tenyésztéséhez és fenntartásához burgonya-dextróz agar (PDA, Biolab) táptalajt (39 g PDA, 1000 ml végtérfogatra desztillált vízzel kiegészítve) használtunk. A növényvédő szerek és termésnövelő anyagok hatását a kórokozók tenyészetnövekedésére és konídiumainak csírázására szintén PDA táptalajon vizsgáltuk. Az *E. coli* transzformálása során 2TY (4 g tripton; 2,5 g élesztő kivonat, 1,25 g NaCl, 250 ml végtérfogatban) és ampicillines LB táptalajt (2,5 g tripton; 1,25 élesztő kivonat, 2,5 g NaCl; 250 ml végtérfogatban + 500 µl 50 mg/ml ampicillin), a Minipreparátum készítéséhez szilárd és folyékony ampicillines LB táptalajt alkalmaztunk.

Enzimek

A PCR-hez *Taq* DNS polimeráz enzimet (rekombináns) [(5 u/µl); puffere: 10x-es *Taq* puffer +KCl – MgCl₂, pH: 8,8 25 °C-on], a ligáláshoz: T4 DNS ligáz enzimet [(5 u/µl); puffere: 10x-es T4 DNS ligáz puffer pH: 7,8 25 °C-on] használtunk. A plazmidot tartalmazó baktérium kolóniák kék-fehér szín szelekciójához IPTG-t és Xgal-t használtunk fel. Az inzertet a plazmidból *EcoRI* (10 u/µl) restrikciós endonukleázzal vágtuk ki. Az enzim puffere: 10x-es *EcoRI* puffer pH: 7,5 37 °C-on. Az enzimeket a Fermentas cégtől vásároltuk.

Kitek

A PCR-terméket High Pure PCR Product Purification Kit-tel (Roche) tisztítottuk. A szekvencia meghatározáshoz BIO RAD, Quantum Prep Plasmid Miniprep Kit-tel tisztítottuk a rekombináns plazmidokat.

3.2.6. Növényvédő szerek és termésnövelő anyagok

Növényvédő szerek

A kísérletek során 37 különféle fungicid hatását teszteltük a kórokozó micéliumának növekedésére, illetve konídiumainak csírázására (**2. táblázat**). A növényvédő szerek dózisait tekintve mindig a legalacsonyabb koncentrációt vettük alapul. Vizsgálatainkba bevontunk két, akkoriban még engedélyeztetés alatt álló készítményt is (Luna Experience, Luna Privilege), melyek azóta megkapták a forgalomba hozatali és felhasználási engedélykírtot.

2. táblázat A vizsgálatba bevont növényvédő szerek jellemző adatai **Ocskó (2014)** és **NÉBIH (2017)** alapján

Márkanév	Hatóanyag	Gyártó	Forgalmi kategória	Hatás-mechanizmus	Dózis
Amistar	250 g/l azoxistrobin	Syngenta	III.	lokoszisztémikus	0,75-1 l/ha
Antracol 70WG	700 g/kg propineb	Bayer	II.	kontakt	1,5-2,25 kg/ha
Bordóilé FW	350 g/l tribázikus rézszulfát	VET-Pharma Kft.	III.	kontakt	5 l/ha
Bravo 500	500 g/l klórtalonil	Syngenta	II.	kontakt	2,5 l/ha
Captan 50WP	50% kaptán	Arysta	I.	kontakt	2-3,2 kg/ha
Catane	795 g/l paraffinolaj	Total Fluides	III.	kontakt	1-2,5%
Chorus 50WG	500 g/kg ciprodinil	Syngenta	III.	szisztémikus	0,35-0,4 kg/ha
Cupertine M	20% réz+8% mankoceb	Indrustrias Quimicas	II.-III.	kontakt	4-5 kg/ha
Cuproxat FW	350 g/l tribázikus rézszulfát	NuFarm	III.	kontakt	4-5 l/ha
Delan 700WG	70% ditianon	BASF Agro	II.	kontakt	0,75kg/ha
Dithane M-45	80% mankoceb	Dow AgroSciences	II.-III.	kontakt	0,2%
Efuzin 500FW	500 g/l dodin	Agriphar S.A.	II.	szisztémikus	0,8-1 l/ha
Flint Max	500 g/kg tebukonazol + 250 g/kg trifloxistrobin	Bayer	I.	szisztémikus	0,4 kg/ha
Funguran-OH 50WP	77% réz-hidroxid	Spiess-Urania	III.	kontakt	2-3 kg/ha
Kasumin 2L	2% kasugamicin	Chemark Kft.	I.	szisztémikus	4 l/ha
Luna Experience	200 g/l fluopyram + 200 g/l tebukonazol	Bayer	I.	szisztémikus	0,3-0,5 l/ha
Luna Privilege	500 g/l fluopyram	Bayer	II.	szisztémikus	0,5 l/ha
Mirage 45EC	450 g/l prokloráz	Makhteshim	II.	szisztémikus	0,3-0,5 l/ha
Montaflow	638 g/l réz-oxiklorid	Montanwerke Brixlegg	III.	kontakt	2-2,5 l/ha
Necator 80WG	80% kén	AgroStulln GmbH	III.	kontakt	3-7,5 kg/ha
Nordox 75WG	86% réz (I)-oxid	Nordox	III.	kontakt	0,27-0,3%
Orius 20EW	200 g/l tebukonazol	Makhteshim	II.	szisztémikus	0,75-0,9 l/ha

Márkanév	Hatóanyag	Gyártó	Forgalmi kategória	Hatás-mechanizmus	Dózis
Pluto 50WP Rézoxiklorid	86% réz-oxiklorid	Agri-Estrella	III.	kontakt	2-3 kg/ha
Quadris	250 g/l azoxistrobin	Syngenta	III.	szisztémikus	0,75-1 l/ha
Rovral Aquaflow	500 g/l iprodion	BASF	I.	szisztémikus	1 l/ha
Score 250EC	250 g/l difenokonazol	Syngenta	III.	szisztémikus	0,2 l/ha
Signum WG	270 g/kg boscalid + 70 g/kg piraklostrobin	BASF	II.-III.	szisztémikus	0,75-1 kg/ha
Switch 62,5WG	250 g/kg fludioxonil + 375 g/kg ciprodinil	Syngenta	III.	szisztémikus	0,8 kg/ha
Sythane duplo	240 g/l miklobutanil	Dow AgroSciences	II.-III.	szisztémikus	0,13 l/ha
Teldor 500SC	500 g/l fenhexamid	Bayer	III.	mélyhatású	1 l/ha
Tiuram Granuflo	80% TMTD	Taminco	II.	kontakt	2-3 kg/ha
Topas 100 EC	10% penkonazol	Syngenta	III.	szisztémikus	0,3-0,5 l/ha
Topsin –M 70WP	tiofanát-metil	Nippon Soda	III.	szisztémikus	0,65-1 kg/ha
VegeSol eReS	11,5% réz- hidroxid + 23% kén + 20% napraforgóolaj	BVN Növényvédő Kft.	III.	kontakt	5 l/ha
VegeSol R	24% réz-hidroxid + 20% napraforgóolaj	BÉVÉEM Kft.	III.	kontakt	3 l/ha
Vitra Réz-hidroxid	77% réz-hidroxid	Industrias Quimicas	III.	kontakt	2-3kg/ha
Zato 50WG	50% trifloxistrobin	Bayer	II.	szisztémikus	0,1-0,15 kg/ha

Termésmenővelő anyagok

A kísérletben 5 különböző növénykondicionáló készítmény közvetlen hatását teszteltük a meggyantraknózis kórokozójára (**3. táblázat**), vizsgálva a micélium növekedésre, illetve a konídiumok csírázására gyakorolt hatásukat. Ebben az esetben is a legalacsonyabb koncentrációval dolgoztunk.

3. táblázat A vizsgálatba bevont terménynövelő anyagok jellemző adatai **Haller (2014)** alapján

Márkanév	Gyártó	Forgalmi kategória	Hatás-mechanizmus	Dózis
Csöppmix (Kalcium)	Jeli 2000 Kft.	III.	kontakt	5-10 l/ha
NH ₄ -foszfát	Cheminova	III.	kontakt	2-3 l/ha
Plantafosz-réz	Plantaco Kft.	III.	kontakt	1-1,5 l/ha
Phosfik	Biolchim S.P.A	III.	kontakt	5-10 l/ha
Sergomil L-60	Sumi Agro Hungary Kft.	III.	kontakt	2-3 l/ha

3.2.7. Eszközök

Vizsgálataink során az általános laboratóriumi üveg- és fémeszközökön túl, 85 mm átmérőjű steril műanyag Petri-csészéket használtunk. Az *in vitro* kísérleteket Thermo Scientific MSC 1.2 lamináris fülke alatt állítottuk be. A tenyészeteket Sanyo MLR-351 fitotronban inkubáltuk. A fertőzött növényi részek vizsgálata során Leica MZ6 sztereomikroszkópot használtunk, a konídiumok vizsgálatát pedig Nikon Eclipse 50i citoplaszt mikroszkóppal végeztük. A mikroszkópos felvételeket QImaging MicroPublisher 5.0 RTV kamerával készítettük. A polimeráz láncreakciók Applied Biosystems 9700 típusú PCR készülékben mentek végbe. A nukleinsavak koncentrációját NanoDrop 2000 (Thermo Scientific) készülékkel mértük meg.

3.3 A vizsgálat módszere**3.3.1. A növényi részek gyűjtése és tárolása**

A fertőzött gyümölcsöket az ország különböző részein gyűjtöttük (**1. táblázat**) feliratozott papírzacskókba és a vizsgálatokig hűtőszekrényben, 4 °C hőmérsékleten tároltuk. A vizsgálatokat és az izolálást legkésőbb 4 napon belül elvégeztük.

A tünetmentes meggyleveleket három helyszínen gyűjtöttük a vizsgálatokhoz. Egy lajosmizsei felhagyott ültetvényben három alkalommal gyűjtöttünk tünetmentes leveleket a lombkorona belső és külső részéből egyaránt. Sósikúton és Soponyán egy alkalommal gyűjtöttünk mintát (**4. táblázat**).

A leveleket feliratozott papírzacskókba helyeztük és legkésőbb másnap beállítottuk a kísérletet. Felhasználásig hűtőszekrényben, 4 °C-on tároltuk őket.

4. táblázat A tünetmentes meggylevelék gyűjtési ideje és származása

Gyűjtés ideje	Gyűjtési hely	Fajta	Egyéb megjegyzés
2012	Sóskút	‘Újfehértói fürtös’	1998-as telepítésű ültetvény, váza koronaforma, sorközökben mechanikai, soralján mechanikai és vegyszeres gyomirtás
2012	Soponya	‘Érdi jubileum’	Kb. 20 éves ültetvény, megfelelő metszés hiányában elsűrűsödött koronával, a sorközben ritka mechanikai, a soralján vegyszeres gyomirtás
2012	Soponya	‘Újfehértói fürtös’	
2012	Lajosmizse	‘Újfehértói fürtös’	felhagyott, elgyomosodott ültetvény növényvédelmi kezelést évek óta nem kapott

3.3.2. A kórokozó jelenlétének vizsgálata tünetmentes leveleken

A vizsgálat során **Börve és mtsai. (2010)** módszerét követtük. A tünetmentes leveleket 10-10 db-os csoportokra osztottuk, majd felületüket fertőtlenítettük. Fél percig 0,5% hipós oldatban, majd 2 percig 70%-os etanolban áztattuk őket. A fertőtlenítést követően steril vízben 2 percig öblítettük a leveleket (**6. ábra**), majd lamináris fülkében megszáritottuk őket. A levélmintákat -18 °C-ra fagyasztóba helyeztük, csoportonként külön steril műanyag dobozokba csomagolva. A módszer alapja, hogy a gomba sporulációját fagyasztással indukálhatjuk a leveleken (**Börve és mtsai., 2010**). Az optimális fagyasztási idő meghatározására különböző ideig hagytuk a fagyasztóban a leveleket: 1, 2, 3, 4 és 5 órán keresztül.

A fagyasztást követően a leveleket nedves kamrába helyeztük (**6. ábra**) és 26 °C-on és mesterséges megvilágítás alatt, fitotronban inkubáltuk azokat. A kórokozó szaporítóképleteinek megjelenését 2 héten keresztül minden nap vizsgáltuk a levelek felszínén.



6. ábra A tünetmentes meggylevelek felületi fertőtlenítése (balra) és inkubációja nedves kamrában (jobbra) (Fotó: Tóth, 2012)

3.3.3. A kórokozók izolálása táptalajon és a tenyészetek fenntartása

A fertőzött gyümölcsökről és a levelekről – melyeken mesterségesen indukáltuk a sporulációt – steril lándzsátű segítségével konídiumokat emeltünk le lamináris fülke alatt és steril PDA táptalajra helyeztük azokat. A tenyészeteket 24 °C-on, sötétben inkubáltuk. Egy hét elteltével a növekvő tenyészetekből 7 mm átmérőjű dugófűrővel a tenyészet széléből micéliummal átszőtt táptalaj korongot emeltünk ki, melyet ismét steril PDA táptalajra helyeztük. Miután az így létrehozott tiszta tenyészetek benőtték a Petri-csészéket 4 °C-on, hűtőszekrényben tároltuk azokat. Az izolátumokat 8-12 hetente oltottuk át, így fenntartva a tenyészeteket a vizsgálatok lezárultáig. A tiszta tenyészeteket a kórokozók jellemzéséhez, a molekuláris azonosításához, a patogenitási teszthez, az *in vitro* növényvédő szeres kísérletekhez használtuk fel.

3.3.4. A morfológiai és tenyészbélyegek megállapítása és értékelése

A fertőzött terméseken megfigyeltük a kórokozók ivartalan szaporító képleteit, az acervuluszokat és a bennük képződő konídiumokat. A fertőzött részekről, ahol a kórokozók szaporító képletei megjelentek, lándzsátűvel emeltük le a konídiumokat és citoplaszt mikroszkóp segítségével 100-100 konídium hosszúságát és átmérőjét mértük meg.

A tenyészeteket 24 °C-on, sötétben tartottuk a vizsgálat végéig. Az izolátumok tiszta tenyészein négynaponta, két egymással derékszöget bezáró átmérőt mértünk. Az értékekből kiszámítottuk az egyes izolátumok növekedési ütemét (mm/24h). A tenyészbélyegek leírása során vizsgáltuk a tenyészetek színét, a tenyészet mintázottságát, a tenyészetek alakját és szélét.

3.3.5. Patogenitási teszt

A vizsgált izolátumok közül 55 izolátum patogenitási tesztjét elvégeztük. A patogenitást akkor tekintettük igazoltnak, ha a Koch-féle posztulátumok teljesültek.

Az izolátumok patogenitásának ellenőrzéséhez 80-95%-os érettségi fokú gyümölcsöket használtunk fel. Minden izolátum esetében elvégeztük a patogenitás vizsgálatot az eredeti gazdanövényt fertőzve. Meggy gazdanövényről származó izolátumokkal alma terméseket is fertőztünk. A levelekről származó izolátumokkal meggy terméseken vizsgáltuk a megbetegítő képességet. A patogenitási tesztet izolátumonként 5-5 termésen végeztük el. A vizsgálatban használt terméseket 70%-os etanollal fertőtlenítettük, ezt követően steril vízzel öblítettük le és megszáritottuk. A kórokozó tíz napos tiszta tenyészetéből micéliummal átszőtt táptalaj korongokat helyeztünk a gyümölcsök epidermiszére. A kontroll terméseket steril PDA korongokkal inokuláltuk. Nagy, steril üveg csíráztató edényekbe steril vízzel átitatott steril szűrőpapírra, vagy steril üvegyöngyökre helyeztük a terméseket. Az inokulált gyümölcsöket szobahőmérsékleten 25 ± 2 °C, természetes megvilágítás mellett 12 napon át inkubáltuk.

3.3.6. A meggyfajták fogékonyságának vizsgálata

A fajták fogékonyságának vizsgálatához a gyümölcsöket fél percen át 0,5% hipós oldatban, majd 2 percig 70%-os etanolban áztattuk. A fertőtlenítést követően steril vízben 2 percig öblítettük azokat, majd lamináris fülkében megszáritottuk. A kórokozó izolátumainak 7-10 napos növekvő tiszta tenyészeiből micéliummal átszőtt táptalajkorongokat helyeztünk a gyümölcsök ép epidermiszére. A kontroll termések felületére steril PDA korongot helyeztünk. Az inokulált terméseket csíráztató edényekbe steril szűrőpapírra helyeztük. Szobahőmérsékleten, természetes megvilágítás melletti inkubáció után 10 nap elteltével értékeltük a tüneteket, vizsgálva az inokulációs pont körül jelentkező barnulást, rothadást és a szaporítóképletek megjelenését.

3.3.7. Molekuláris biológiai vizsgálatok

Örökítőanyag kivonása CTAB módszerrel

A kórokozók 6-10 napos tiszta tenyészetéből nyertük a DNS-t a molekuláris vizsgálatokhoz. A gomba micéliumát lamináris fülke alatt leemeltük a táptalajról és dörzsmozsárban kvarchomok segítségével eldörzsöltük. 700 µl CTAB puffer (2% CTAB; 1,4M NaCl; 20 mM EDTA; 100 mM TRIS-HCl pH: 8; 0,2% 2-ME) hozzáadása után tovább homogenizáltuk, majd az elegyet Eppendorf csőbe töltöttük és 20 percig 65 °C-os hőmérsékleten

inkubáltuk. A sejtfal, fehérjék, szennyeződések eltávolítása érdekében 700 µl izoamilalkoholos-kloroformot adtunk hozzá és jól összeráztuk, vortexeltünk, majd 10 percig centrifugáltuk. A vizes fázist pipettával tiszta Eppendorf csőbe átszívtuk, erre 600 µl izoamilalkoholos-kloroform került, melyet kézzel összeráztunk, vortexeltünk, majd 10 percig centrifugáltunk. A felső fázist tiszta Eppendorf csőbe pipettáztuk és hozzáadtunk 400 µl izopropanolt, mellyel denaturáltuk a nukleinsavakat. Újabb centrifugálás után leöntöttük a felülúszót és a pelletet 70%-os etanollal mostuk. A következő centrifugálás után ismét elöntöttük a felülúszót és a pelletet beszárítottuk (kb. 10-15 perc), majd 20 µl 10 µg/ml RNase-t tartalmazó TE-oldatban oldottuk vissza. Az örökítő anyagot a továbbiakban -20 °C-on tároltuk.

PCR (Polimeráz-lánreakció, polymerase chain reaction) vizsgálat

A molekuláris vizsgálatokhoz PCR módszert alkalmaztunk, az **5. táblázat**ban megtalálható primerpárok felhasználásával. A vizsgálathoz a következőket mértük össze 50 µl végtérfogatra:

- 4 µl DNS
- 1 µl primer (20 pmol/µl)
- 1 µl primer (20 pmol/µl)
- 3 µl MgCl₂ (20 mM)
- 5 µl 10x *Taq* puffer
- 0,5 µl *Taq* polimeráz enzim (5 u/µl)
- 2 µl dNTPs (nukleotidok: A, G, C, T; 5mM)
- 33,5 µl steril víz.

A polimeráz lánreakció során egy ciklus 3 lépésből áll: denaturáció, anelláció (primer kötődés) és elongáció (láncszabítás). Az elsődleges denaturációt (94 °C, 5 perc) 35 ciklus követte. A reakció a befejező láncszabítással (72 °C, 10 perc) zárult. A részletes protokollok az **5. táblázat**ban találhatók.

A PCR-termék visszaizolálása és tisztítása

Agaróz gélben (1%-os) futtattunk 3 µl PCR-terméket, 3 µl festéket, valamint 3 µl steril vizet. A PCR terméket a High Pure PCR Product Purification Kit-tel a gyártó utasításait követve tisztítottuk meg.

5. táblázat A polimeráz láncreakciók paraméterei a vizsgált szakaszok szerint

Vizsgált szakasz	Primerek	PCR ciklus			Célszekvencia hosszúsága
		Denaturáció	Primer kötődés	Lánc-hosszabbítás	
ITS régió	ITS5 NL4	94 °C, 30 s	55 °C, 30 s	72 °C, 120 s	~1200 bp
Kalmodulin gén	CA_CAL1 CA_CAL2	94 °C, 30 s	59 °C, 60 s	72 °C, 60 s	~800 bp
Hisztón 3 gén	CAHistone3.for CAHistone3.rev	94 °C, 30 s	50 °C, 120 s	72 °C, 120s	~350 bp

Ligálás

Egyes esetekben a tisztított PCR-terméket pGEM-T Easy vektorba ligáltuk. A ligáláshoz 3,5 µl steril H₂O, 1 µl plazmid (pGEM-T Easy), 1 µl puffer (T4 DNS ligáz 10x-es puffere), 0,5 µl enzim (T4 DNS ligáz enzim), 4 µl inzert (tisztított PCR-termék,) komponenseket mértük össze 10 µl végtérfogatra, majd 4 °C-on egész éjszakán keresztül ligáltuk.

Transzformálás *E. coli* DH 5-a és JM 109 törzsébe

A -70 °C-on tárolt kompetens sejtet jégen kiolvastottuk, majd a ligátumot is jégre helyeztük. Az így felolvadt kompetens sejtet hozzámértük a ligátumhoz, 30 percig hagytuk jégen állni, majd a transzformáláshoz egy percen át 42 °C-on tartottuk. Ezután azonnal jégre tettük és öt percig állni hagytuk. Ezt követően hozzámértünk 500 µl antibiotikum-mentes 2TY folyékony táptalajt és ezzel összeforgattuk. Egy órán át 37 °C-on rázattuk. Ezalatt ampicillin tartalmú LB szilárd táptalajra 10 µl IPTG-t (100 mM) és 40 µl Xgal-t (20 mg/ml) szélesztettünk, és megvártuk, míg megszárad. A rázatás után az előkészített táptalajra 50, ill. 100 µl-t kikentünk a már felszaporodott baktérium tenyészetből. Száradás után a lemezeket sötétben 37 °C-on, termosztátban inkubáltuk egy éjszakán át.

Minipreparátum készítése és az inzert beépülésének ellenőrzése

Négy egyedi fehér kolóniából 2–2 ml folyadékkultúrába (ampicillines LB) inokuláltunk, és 37 °C-on 12 órán át rázattuk. A baktériumkultúrával töltött Eppendorf csövet 3 percig

centrifugáltuk szobahőmérsékleten. A felülúszót leöntöttük, és a pellethez hozzáadtunk 200 µl „A” oldatot (15 mM TRIS- HCl pH: 8; 10 mM EDTA, 50 mM glükóz), Vortex segítségével összekevertük, majd öt percig szobahőmérsékleten állni hagytuk. Aztán hozzáértünk 400 µl „B” oldatot (0,2 M NaOH; 1% SDS), összeforgattuk, majd 300 µl „C” oldatot (60 ml 5 M Na-acetát; 11,5 ml ecetsav; 28,5 ml steril desztillált víz) és ezzel is összeforgattuk, öt percre jégre helyeztük. Öt percig szobahőmérsékleten centrifugáltuk, majd a felülúszót új Eppendorf csőbe töltöttük. Az előző lépést megismételtük, majd hozzáadtunk 600 µl izopropanolt az örökítőanyag denaturálására, majd összeforgattuk és öt percig centrifugáltuk szobahőmérsékleten. Leöntöttük a felülúszót, lecsöpögtettük és a pellethez hozzáadtunk 200µl „D” oldatot (0,1 M Na-acetát pH: 7; 0,05 M TRIS-HCl pH: 8), ezt 10 percig hagytuk szobahőmérsékleten állni, majd Vortex segítségével kevertük, végül 400 µl etanollal öt percig centrifugáltuk, a felülúszót leöntöttük és a pelletet beszárítottuk 10 perc alatt. Utolsó lépésként a pelletet visszaoldottuk 50 µl RNase TE-ben (1 ml 10x TE, 9 ml steril H₂O, 10 µl RNase (10 mg/ml)).

A Minipreparátum módszerrel tisztított rekombináns klónok plazmidjaiban *EcoRI* enzimmel ellenőriztük a PCR-termék beépülését. Az *EcoRI* enzim jól használható erre a célra, hiszen a beépülés helye mellett mindkét oldalon megtalálható ez a specifikus hasítóhely. Az emésztéshez 3 µl plazmidot (0,5 µg), 1µl 10x *EcoRI* puffert, 0,2 µl *EcoRI* enzimet (10 u/µl) és 5,8 µl steril desztillált vizet mértük össze 10 µl végtérfogatra. Az Eppendorf-csőveket 1 órán át 37 °C-on inkubáltuk. A mintákat 1% agaróz gélben megfuttattuk, és ellenőriztük, a megfelelő hosszúságú inzert kivágódását.

Plazmid tisztítás szekvencia meghatározáshoz

A kiválasztott klónokat 2-2 ml folyadékkultúrában (ampicillines LB) újra felszaporítottuk (37 °C-on egész éjszaka rázatás). A baktériumkultúrával töltött Eppendorf csöveket 3 percig centrifugáltuk szobahőmérsékleten, majd Quantum Prep Plasmid Miniprep Kittel (BIO-RAD) a gyártó utasításai követve tisztítottuk. Szekvencia meghatározásra 10 µl tisztított rekombináns plazmidot küldtünk Szegedre a BAY-GEN Növénygenomikai, Humán Biotechnológiai és Bioenergiái Intézetbe. Azokban az esetekben, amikor a célszekvenciát nem közvetlen szekvencia meghatározásra küldtük, hanem klónoztuk, 3-3 klón nukleotid sorrendjét határoztattuk meg.

A nukleotid szekvencia meghatározása és analízise

A tisztított PCR termékek és a kiválasztott klónok szekvenciáját ABI 3500 (Applied Biosystems) típusú szekvenáló automatával, és ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing kittel határoztattuk meg. A szekvencia azonosításához az NCBI adatbázist illetve annak BLAST programját használtuk fel. A szekvenciákat a CLC Main Workbench 7.7. (CLC Bio) program segítségével elemeztük. Sokszoros illesztéssel (multiple alignment) hasonlítottuk össze a nukleotid sorrendet.

A filogenetikai elemzéseket a BEAST v2.3.2. (Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees) programcsomag segítségével végeztük (**Drummond és mtsai., 2012**). A program bayesi statisztikán alapszik és MCMC (Markov chain Monte Carlo, Markov-lánc Monte Carlo) módszert (**Gelfand és Smith, 1990**) alkalmaz. A pontos modell megtalálásához a ModelTest 3.7. programot használtuk (**Guindon és Gascuel, 2003; Darriba és mtsai., 2012**), amely 56 lehetséges modelltől választja ki a megfelelőket PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) módszer segítségével (**Posada és Crandall, 1998**). A program az ITS régió, a HIS3 gén és a CAL gén esetén is a Jukes Cantor és a F81 modelleket ajánlotta. A BEAST elemzés során a Jukes Cantor modellt alkalmaztuk (**Jukes és Cantor, 1969**), mert a két modell közül ez szerepel a programcsomagban.

A NCBI adatbankból a **6. táblázat**ban szereplő hivatkozási számokon található izolátumok szekvenciáit gyűjtöttük ki a filogenetikai analízishez.

6. táblázat: A vizsgált fajok NCBI adatbázisban szereplő hivatkozási számai

Fajnév	Génbanki azonosító szám		
	ITS	HIS3	CAL
<i>C. acerbum</i>	JQ948459	JQ949450	
<i>C. acutatum</i>	JQ948347	JQ949338	HM575365
<i>C. acutatum</i>	JQ948369	JQ949360	HM575366
<i>C. acutatum</i>	JQ948377	JQ949368	HM575367
<i>C. acutatum</i>	JQ948383	JQ949374	KT600771
<i>C. acutatum</i>	JQ948373	JQ949364	
<i>C. acutatum</i>	JQ948361	JQ949352	
<i>C. acutatum</i>	JQ948392	JQ949383	
<i>C. acutatum</i>	JQ948395	JQ949386	
<i>C. australe</i>	JQ948456	JQ949447	
<i>C. brisbanense</i>	JQ948291	JQ949282	
<i>C. chrysanthemii</i>	JQ948273	JQ949264	
<i>C. cosmi</i>	JQ948274	JQ949265	
<i>C. costaricense</i>	JQ948180	JQ949171	
<i>C. cuscutae</i>	JQ948195	JQ949186	
<i>C. fioriniae</i>	JQ948341	JQ949332	KJ954727

Fajnév	Génbanki azonosító szám		
	ITS	HIS3	CAL
<i>C. fioriniae</i>	JQ948345	JQ949336	
<i>C. godetiae</i>	JQ948424	JQ949415	KR180291
<i>C. godetiae</i>	JQ948429	JQ949420	
<i>C. guajavae</i>	JQ948270	JQ949261	
<i>C. indonesiense</i>	JQ948288	JQ949279	
<i>C. johnstonii</i>	JQ948443	JQ949434	
<i>C. kinghornii</i>	JQ948454	JQ949445	
<i>C. laticiphilum</i>	JQ948289	JQ949280	KT600794
<i>C. limetticola</i>	JQ948193	JQ949184	
<i>C. lupini</i>	JQ948173	JQ949164	
<i>C. lupini</i>	JQ948177	JQ949168	
<i>C. melonis</i>	JQ948194	JQ949185	
<i>C. nymphaeae</i>	JQ948216	JQ949207	KT600789
<i>C. nymphaeae</i>	JQ948198	JQ949189	
<i>C. orchidophilum</i>	JQ948152	JQ949143	
<i>C. paxtonii</i>	JQ948285	JQ949276	
<i>C. phormii</i>	JQ948451	JQ949442	
<i>C. pseudoacutatum</i>	JQ948480	JQ949471	
<i>C. pyricola</i>	JQ948445	JQ949436	
<i>C. rhombiforme</i>	JQ948458	JQ949449	
<i>C. salicis</i>	JQ948476	JQ949467	
<i>C. scovillei</i>	JQ948268	JQ949259	KP943586
<i>C. simmondsii</i>	JQ948279	JQ949270	KT600785
<i>C. simmondsii</i>	JQ948280	JQ949271	
<i>C. sloanei</i>	JQ948287	JQ949278	
<i>C. tamarilloi</i>	JQ948189	JQ949180	
<i>C. tamarilloi</i>	JQ948190	JQ949181	
<i>C. walleri</i>	JQ948275	JQ949266	

Magyarázat: Az ITS és HIS3 génbanki azonosító számok **Damm és mtsai. (2012)** nyomán

3.3.8. A növényvédő szerek és termésmnövelő anyagok hatásának vizsgálata *in vitro*

körülmények között

A micéliumnövekedésre gyakorolt hatás vizsgálata

A hatásvizsgálatok során a növényvédő szereket és termésmnövelő anyagokat gyakorlati dózisban és annak tízszeres hígításában teszteltük. A vizsgálatokat mérgezett agarlemez módszerrel végeztük (7. ábra). A készítményeket előre elkészített, steril, kézmeleg PDA táptalajhoz kevertük, majd Petri-csészékbe töltöttük. A megszilárdult táptalaj közepére helyeztük a kórokozó növekvő, tiszta tenyészetének széléből származó, micéliummal átszőtt táptalajkorongot. Minden esetben készítettünk hatóanyagot nem tartalmazó kontroll lemezeket is. A vizsgálatokat 4 ismétlésben végeztük. A Petri-csészéket sötétben, 24 °C-on inkubáltuk. Az

eredményeket akkor értékeltük, amikor a kontroll tenyészet már teljesen benőtte a Petri-csészéket. Ekkor a telepeket két egymással derékszöget bezáró átmérő mentén megmértük. Eredményeinket Excel táblázatban összesítettük, majd a különböző készítmények micéliumnövekedésre gyakorolt hatását a kontroll tenyészet növekedéséhez viszonyítottuk.



7. ábra A *C. acutatum sensu lato* növekedésnek indult tenyészet a mérgezett agarlemez felületén (Fotó: Tóth, 2011)

A konídiumok csírázására gyakorolt hatás vizsgálata

A növényvédő szerek és termésnövelő anyagok hatékonyságát teszteltük a konídiumok csírázására is, gyakorlati dózisban és annak tízszeres hígításában. A vizsgálat módszerül szintén a mérgezett agarlemez módszert választottuk, ugyanis az előkísérletek során a kórokozó konídiumai nem csíráztak megfelelően vízben. A konídium szuszpenzió elkészítéséhez a tiszta tenyészetekben megjelenő narancssárgás konídium masszából konídiumokat szuszpendáltunk steril desztillált vízben, majd Bürker-kamra segítségével 6×10^2 db/ml konídium koncentrációt állítottunk be. A mérgezett agarlemezek közepére 500 μ l-t pipettáztunk, majd szélesztettük. A kezeletlen kontroll esetében a konídiumokat hatóanyagot nem tartalmazó PDA táptalaj felületén szélesztettük. A kísérletet 4 ismétlésben állítottuk be. A lemezeket sötétben, 24 °C-on inkubáltuk. A kísérletet a telepek megszámolásával 48-72 óra elteltével értékeltük, amikor a kontroll esetében a konídiumok csírázásnak indultak. Eredményeinket Excel táblázatban összesítettük, majd a különböző készítmények hatását a kontrollhoz viszonyítottuk.

3.3.9. A növényvédő szerek hatása *in vivo* körülmények között a meggyantraknózis kórokozója ellen

A növényvédő szerek kijuttatásának módszere

A növényvédő szerek kijuttatása mindkét ültetvényben axiál ventilátoros permetező géppel történt, 700 literes lémenyiséggel hektáronként. A kezeléseket a reggeli, illetve a délelőtti órákban végezték el.

A vizsgált növényvédelmi technológiák

A 2012-es évben a Bayer CropScience számára Sósikúton és Kiskunmajsán is beállítottunk egy-egy kísérletet a kidolgozott növényvédelmi stratégiából. A kezeléseket a két helyszínen megegyeztek (**7. táblázat**). Először kontakt hatásmódú Antracol 70 WG-t (propineb; 2,2 kg/ha), majd két szisztémikus hatásmódú készítményt alkalmaztunk: Folicur Solo (tebukonazol; 1,0 l/ha) és Flint Max (trifloxistrobin + tebukonazol; 0,45 kg/ha). Ebben az évben a kijuttatási módszerek egységeseek voltak, a kezelt állományokban eltérések nem voltak. A kezeléseket Sósikúton 3 ha-on, Kiskunmajsán pedig 33 fából álló parcellákon végezték, melyek mellett közvetlenül nem történt üzemi növényvédelem az izoláció érdekében.

Az ültetvényekben vizsgáltuk továbbá az üzemben alkalmazott növényvédelem hatékonyságát is. Sósikúton egymást követően kétszer alkalmazták a Manzate 75 DF (mankoceb; 2,0 kg/ha) növényvédő szert, majd Topas 100 EC-t (penkonazol; 0,5 l/ha) juttattak ki. Kiskunmajsán Topsin M WG (tiofanát-metil; 1,0 kg/ha) + Thiuram Granuflo (thiram; 3,0 kg/ha) szerkombinációt használtak az első kezeléskor, a második esetben: Folicur Solo (tebukonazol; 1,0 l/ha) + Thiuram Granuflo (thiram; 3,0 kg/ha) kombinációt. A harmadik alkalommal Switch 62,5 WG (fludioxonil+ciprodinil; 1,0 kg/ha) készítményt juttattak ki (**7. táblázat**).

A 2013-as évben a Bayer CropScience számára a Sósikúton beállított kísérletben az első kezelést kontakt hatásmódú növényvédő szerrel (propineb - Antracol 70 WG; 2,2 kg/ha) végeztük. Ezt követte volna az előző évi technológia szerint a két, szisztémikus növényvédő szerrel végzett kezelés, azonban a csapadékos időjárás miatt három kezelést tartottunk indokoltnak. Két alkalommal tebukonazol hatóanyagú Folicur Solo-t (1,0 l/ha), majd egy alkalommal trifloxistrobin + tebukonazol hatóanyagokkal rendelkező Flint Max-ot (0,45 kg/ha) permeteztek ki (**8. táblázat**). Az üzemi növényvédelem hatékonyságát ebben az évben is vizsgáltuk. Májusban két alkalommal végezték fungicid kezelést antraknózis ellen kontakt hatóanyaggal: Dithane DG Neo-Tec (mankoceb; 2,1 kg/ha) és Orthocid 80 WDG (kaptán; 2 kg/ha), majd júniusban két alkalommal permeteztek szisztémikus készítménnyel: a Topas 100 EC (penkonazol; 0,5 l/ha) fungiciddal (**8. táblázat**).

A Bayer CropScience számára Kiskunmajsán 2013-ban beállított kísérlet kismértékben eltér az előző évitől. Az első hektárútg a parcellát tebukonazol hatóanyag tartalmú Folicur Solo (1,0 l/ha) növényvédő szerrel kezelték. A határút utáni parcellában pedig tebukonazol (Folicur Solo; 1,0 l/ha) + propineb (Antracol 70 WG; 2 kg/ha) kombinációval, majd tíz nappal később trifloxistrobin + tebukonazol (Flint Max; 0,4 kg/ha) hatóanyag tartalmú készítménnyel végeztek állománypermetezést **(9. táblázat)**.

Ebben az évben a Sumi Agro számára is végeztünk vizsgálatokat. Három különböző kezelés hatékonyságát hasonlítottuk össze **(9. táblázat)**. Az első kezelés Folicur Solo (tebukonazol; 1,0 l/ha) készítménnyel történt a parcellában az 1. fától a 32-ig. A második esetben Thiuram Granuflo (thiram; 2,5 kg/ha) növényvédő szerrel, majd egy Sergomil (réz; 3,0 l/ha) biostimulátorral végeztük a kezeléseket, a 34. fától 67. fáig. A harmadik módszernél először Thiuram Granuflo (thiram; 2,5 kg/ha) készítménnyel permeteztünk. Utána a Sergomil (réz; 3,0 l/ha) biostimulátoros kezelést kiegészítettük egy Signum (boszkalid + piraklostrobin; 1,0 kg/ha) készítménnyel, 68. fától a 101. fáig **(9. táblázat)**.

7. táblázat Sósókúton és Kiskunmajsán célzottan a meggyantraknózis ellen végzett kezelések 2012-ben

Technológia	Kijuttatott fungicidek	Dózis	Kezelések időpontjai	Kezelt fajták
Bayer számára beállított kísérlet Sósókúton (Bayer II.)	Antracol 70WG + Silwet Star	2,2 kg/ha 0,25 l/ha	2012.05.10	3 x 5 m térállás Érdi böttermő (Sósókút) Újfehértói fűrtös,
	Folicur Solo + Silwet Star	1,0 l/ha 0,25 l/ha	2012.05.23.	
	Flint Max + Silwet Star	0,45 kg/ha 0,25 l/ha	2012.06.07.	
Üzemi növényvédelem Sósókúton	Manzate75DF + Silwet Star	2,0 kg/ha 0,25 l/ha	2012.05.10.	7 x 5 m térállás Érdi böttermő (Sósókút) Újfehértói fűrtös,
	Manzate75DF + Silwet Star	2,0 kg/ha 0,25 l/ha	2012.05.23.	
	Topas 100EC+ Silwet Star	0,5 l/ha 0,25 l/ha	2012.06.07.	
Bayer számára beállított kísérlet	Antracol 70WG + Spur	2,0 kg/ha + 0,25 l/ha	2012.05.21.	Kántorjánosi (Kiskunmajsa)

Kiskunmajsán (Bayer II.)	Folicur Solo + Spur	1,0 l/ha + 0,25 l/ha	2012.06.04.	
	Flint Max + Spur	0,4 kg/ha + 0,25 l/ha	2012.06.17.	
Technológia	Kijuttatott fungicidek	Dózis	Kezelések időpontjai	Kezelt fajták
Üzemi növényvédelem Kiskunmajsán	Topsin M WG + Thiuram Granuflo + Spur	1,0 kg/ha + 3,0 kg/ha + 0,25 l/ha	2012.05.21.	Kántorjánosi (Kiskunmajsa)
	Folicur Solo + Thiuram Granuflo + Spur	1,0 l/ha 3,0 kg/ha + 0,25 l/ha	2012.06.04.	
	Switch 62,5 WG	1,0 kg/ha	2012.06.17.	

8. táblázat Bayer számára beállított kísérlet és az üzemi növényvédelem a sóskúti ültetvényben 2013-ban

Technológia	Kijuttatott fungicidek	Dózis	Kezelések időpontjai	Kezelt fajta
Bayer számára beállított kísérlet (Bayer II.)	Antracol 70 WG + Silwet Star	2,2 kg/ha 0,25 l/ha	2013.05.14.	Újfehértói fürtös, Érdi bőtermő (Sóskút) 3 x 5 m térállás
	Folicur Solo + Silwet Star	1,0 l/ha 0,25 l/ha	2013.05.27.	
	Folicur Solo + Silwet Star	1,0 l/ha 0,25 l/ha	2013.06.06.	
	Flint Max + Silwet Star	0,45 kg/ha 0,25 l/ha	2013.06.14.	
Üzemi növényvédelem Sóskúton	Dithane DG Neo-Tec + Silwet Star	2,1 kg/ha 0,25 l/ha	2013.05.14.	Újfehértói fürtös, Érdi bőtermő (Sóskút) 7 x 5 m térállás
	Orthocid 80 WDG + Silwet Star	2 kg/ha 0,25 l/ha	2013.05.27.	
	Topas 100EC + Silwet Star	0,5 l/ha 0,25 l/ha	2013.06.06.	
	Topas 100EC + Silwet Star	0,5 l/ha 0,25 l/ha	2013.06.14.	

A két cég számára végzett kezeléseket azonos kezdeti kezelések előzték meg. Április 22-én Folicur Solo-val (1,0 l/ha), 3 nap múlva tebukonazol hatóanyagú Mystic (1,0 l/ha) készítménnyel permeteztünk. Május 3-án Topsin M 70 WG (0,8 kg/ha), 12 nappal később Mirage 45 EC (0,3 l/ha) + Buvicid K 370 SC (2,5 l/ha) növényvédő szerekkel védekeztünk. 12 nap múlva Topsin M 70 WG (1,0 kg/ha) + Thiuram Granuflo (2,0 kg/ha) és végül (9 nap múlva) Folicur Solo (0,8 l/ha) + Thiuram Granuflo (3,0 kg/ha) szerkombináció kijuttatással fejeztük be az alapkezeléseket **(9. táblázat)**.

Kiskunmajsán üzemi körülmények között nagy mennyiségű növényvédő szer felhasználása mellett védekeztek a növénypatogén gombák okozta betegségek ellen. Hogy össze tudjuk hasonlítani a Bayer számára beállított kémiai védekezést más kezelésekkel, az üzemi növényvédelmet is két részre osztották. A hektárútig kétszeri kijuttatással Folicur Solo (tebukonazol; 1,0 l/ha) + Thiuram Granuflo (thiram; 2,5 kg/ha) kombinációt és Buvicid K 370 SC (kaptán + karbamid; 2,5 l/ha) készítményt juttattak ki. A hektárút után 3 időpontban Folicur Solo (tebukonazol; 1,0 l/ha) + Thiuram Granuflo (thiram; 2,5 kg/ha), utána Signum (boszkalid + piraklostrobin; 1,0 kg/ha), végül Buvicid K 370 SC (kaptán + karbamid; 2,5 kg/ha) növényvédő szerekkel permeteztek **(10. táblázat)**.

9. táblázat Kiskunmajsán végzett kezeléseket a Bayer és a Sumi Agro számára 2013-ban

Technológia	Kijuttatott fungicidek	Dózis	Kezelések időpontjai	Kezelt fajta	
Közös kezdeti kezelések	Folicur Solo	1,0 l/ha	2013.04. 22.	Kántorjánosi (Kiskunmajsa)	
	Mystic	1,0 l/ha	2013.04.25. – 26.		
	Topsin M 70 WG	0,8 kg/ha	2013. 05. 03.		
	Mirage 45 EC + Buvicid K 370 SC + Spur	0,3 l/ha 2,5 l/ha 0,25 l/ha	2013.05.15.		
	Topsin M 70 WG + Thiuram Granuflo + Spur	1,0 kg/ha 2,0 kg/ha 0,25 l/ha	2013.05. 27.		
	Folicur Solo + Thiuram Granuflo + Spur	0,8 l/ha 3,0 kg/ha 0,25 l/ha	2013.06.05.		
Baye számára beállított kísérlet	(Hektárútig) (Bayer I.)	Folicur Solo + Spur	1,0 l/ha 0,25 l/ha	2013.06.17.	Kántorjánosi (Kiskunmajsa)
		Folicur Solo + Antracol +	1,0 l/ha 2 kg/ha	2013.06.17.	

	(Hektárút után)	Flint Max + Spur	0,4 kg/ha 0,25 l/ha	2013.06.26.	
Sumi Agro számára beállított kísérlet	(1-32. fa) (Sumi Agro I.)	Folicur Solo + Spur	1,0 l/ha 0,25 l/ha	2013.06.17.	
	(34-67. fa) (Sumi Agro II.)	Thiuram Granuflo + Spur	2,5 kg/ha 0,25 l/ha	2013.06.17.	
		Sergomil + Spur	3,0 l/ha 0,25 l/ha	2013.06.26.	
	(68-101. fa) (Sumi Agro III.)	Thiuram Granuflo + Spur	2,5 kg/ha 0,25 l/ha	2013.06.17.	
		Signum + Sergomil + Spur	1,0 kg/ha 3,0 l/ha 0,25 l/ha	2013.06.26	

10. táblázat Kiskunmajsán végzett üzemi növényvédelem 2013-ban

Technológia		Kijuttatott fungicidek	Dózis	Kezelések időpontjai	Kezelt fajta
Üzemi növényvédelem Kiskunmajsán	I. (Hektárútig)	Folicur Solo +	1,0 l/ha	2013.06.17.	(Kiskunmajsa) Kántorjánosi
		Thiuram Granuflo	2,5 kg/ha		
		Buvid K 370 SC	2,5 l/ha	2013.06.26.	
	II. (Hektárút után)	Folicur Solo +	1,0 l/ha	2013.06.17.	
		Thiuram Granuflo	2,5 kg/ha		
		Signum	1,0 kg/ha	2013.06.19.	
		Buvid K 370 SC	2,5 l/ha	2013.06.26.	

A beteg termékek számának felmérése mindkét ültetvényben vizuális felvételezéssel történt.

Sóskúton a 2012-es évben az 'Érdi bőtermőt' június 19-én, az 'Újfehértói fürtöst' június 30-án, 2013-ban június 20-án, illetve július 4-én értékeltük ki. A betegség felmérése fajtánként és technológiánként történt. 300 - 300 fáról 100-100 gyümölcsöt vizsgáltunk meg a lombkorona alsó és középső részéről.

Kiskunmajsán a 'Kántorjánosi' fajta értékelése 2012. június 27-én és 2013. július 1-én történt. A kísérleti parcella valamennyi fáját megvizsgálva fánként véletlenszerűen 100-100 gyümölcsöt választottunk ki a fák alsó, felső és középső részéről egyaránt. A fertőzött gyümölcsök mennyiségét százalékos értékkel fejeztük ki.

A növényvédelmi technológiák hatékonyságának vizsgálata tárolás során

2013-ban Kiskunmajsáról minden kezelési csoportból (Sumi Agro I., Sumi Agro II., Sumi Agro III., Bayer I., Bayer II., üzemi) 100-100 termést gyűjtöttünk feliratozott papírzacskókba. A gyümölcsöket tálcákon szétterítve hűtőszekrénybe (4 °C-ra) helyeztünk, majd 1 hétig tároltuk.

Az így begyűjtött és hűtve tárolt terméseket egyenként vizuális módszerrel vizsgáltuk meg hét nap elteltével. Azt vizsgáltuk, hogy a tárolás során fokozódik-e a megbetegedés, megjelennek-e újabb tünetek a tárolt gyümölcsökön. A fertőzött gyümölcsök mennyiségét százalékos értékkel fejeztük ki.

3.3.10. A vizsgálatok során alkalmazott statisztikai módszerek

Statisztikai kiértékelést a konídiumok méreténél, az *in vitro* és *in vivo* vizsgálatoknál alkalmaztunk. A vizsgálataink során, az összehasonlításokhoz Microsoft Excel és IBM SPSS 20 statisztikai programot használtuk. Az SPSS felhasználóbarát statisztikai szoftver, mely klasszikus és modern statisztikai módszereket egyaránt tartalmaz. Előnye, hogy a feltételek hiányában nem használható hagyományos módszerek helyett más módszerek alkalmazására is lehetőséget kínál.

Összehasonlító vizsgálataink során a hagyományos, paraméteres módszerek (egytényezős varianciaanalízis) alkalmazásához a minták adatainak normalitása, valamint a szóráshomogenitás sérült, ezért a nekik megfelelő nemparaméteres módszerek használata is indokolt volt. A konídiumok méreteinél két kvantitatív tulajdonság figyelembe vétele alapján (hosszúság és szélesség) kívántuk kimutatni az izolátumok hatása közötti különbségeket, ezért a többváltozós varianciaanalízist használtunk. A variancia-analízist kiegészítő középérték összehasonlító tesztek közül a Duncan-féle szignifikáns differencia, ún. post hoc analízist használtuk, létrehozva a kezelések homogén csoportjait a különböző jellemzők alapján. A csoporton belüli varianciák egyezőségét a Levene-teszttel ellenőriztük és szükség esetén a mintaelemszámok és szórások azonosságát nem feltételező Games-Howell próbát alkalmaztuk. Az összehasonlításokat az SPSS Programcsomag segítségével, 95%-os szignifikancia szinten végeztük.

Továbbá 4 vizsgált izolátumra kívántuk kimutatni a kezelések hatékonysága közötti szignifikáns különbségeket a kezeletlen kontroll, 37 növényvédő szerrel és 5 termélnövelő anyaggal, valamint a készítmények tízszeres hígításával való kezeléseket összehasonlítva, a tenyészetek micéliumának növekedésére gyakorolt hatása alapján. Az általános lineáris modell szimultán összehasonlítás módszerét (multiple comparison) különösen a nemparaméteres eseteknél érdemes alkalmazni, mert szórásanalízisre, azaz normalitást feltételező eljárásra nem kerülhet sor. A varianciaanalízist kiegészítő középérték összehasonlító tesztek közül ebben az esetben is a Duncan-féle szignifikáns differencia, ún. post hoc analízist használtuk, létrehozva a

kezelések homogén csoportjait az izolátumok kezelésekre való érzékenysége alapján. Az összehasonlításokat 95%-os szignifikancia szinten végeztük.

Az *in vivo* vizsgálatok statisztikai értékelése során a pontos kiértékelés érdekében három módszert is alkalmaztunk: Marascuillo-tesztet, χ^2 -próbát és a Fisher-féle egzakt próbát.

A megfigyelések bizonytalanságainak, illetve a nagyságrendi különbségeknek – amelyek egy-két kiugró, de igen fontos értéket is eredményeztek – az ellensúlyozására a fertőzöttségi szinteket kétféleképpen kategorizáltuk.

Az egyik a fertőzött-nem fertőzött fa (0-1) csoportosítás volt, ennek alapja, hogy az adott fán egyáltalán találtunk-e fertőzött gyümölcsöt. Ebben az esetben a fertőzött fák arányait hasonlítottuk össze a különböző kezelésekkel, részben homogenitásra vonatkozó χ^2 -próbát végezve, illetve Fisher-féle egzakt próbával, részben a páronkénti összehasonlítást magában foglaló Marascuillo-tesztet felhasználva.

A másik kategorizálást csak azon kezelésekként végeztük el, amelyeknél jelentős számban előfordultak kiugróan fertőzött fák, itt az 1-es kategóriába kerültek azok a fák, amelyeknél 100 gyümölcs között egyáltalán nem találtunk fertőzöttet, 2-es kategóriába azok, amelyeknél 1-4 közötti darab fertőzöttet találtunk és 3-asba azok, amelyeken legalább 5 fertőzött gyümölcs volt. (A legsúlyosabb esetekben a fertőzött gyümölcsök száma megközelítőleg 50 volt. Ugyanakkor, mivel kevés ennyire súlyosan fertőzött fát sikerült megfigyelni, értelmetlen lett volna tovább finomítani a kategóriákat, mivel statisztikailag értékelhetetlen adatokat kaptunk volna.) Az így kategorizált adatokat szintén χ^2 -próbával vizsgáltuk.

Marascuillo-teszt: A Marascuillo-teszt valamely jellemző több alapsokaságbeli arányainak (páronkénti) összehasonlítására szolgál. Próbastatisztikája a mintából becsült arányok különbségének négyzete: $(p_i - p_j)^2$, a kritikus érték pedig a χ^2 -eloszlás és az arányok felhasználásával $\chi^2_{1-\alpha, k-1} \cdot (p_i \cdot (1-p_i)/n_i + p_j \cdot (1-p_j)/n_j)$. Amennyiben a próbastatisztika értéke ennél nagyobb, szignifikáns eltérést állapíthatunk meg a kérdéses alapsokaságbeli arányok között **(Marascuillo és Serlin, 1988)**.

Homogenitásvizsgálat: A homogenitásvizsgálat két alapsokaság ismeretlen eloszlását hasonlítja össze, hogy azok tekinthetőek-e megegyezőeknek. Erre a legegyszerűbb módszer a χ^2 -négyzet próba, melyet kategorikus adatok elemzésére használunk. N darab standard normális eloszlású változó négyzetes összegeként kapjuk a χ^2 -négyzet eloszlást. Ehhez a próbához a szabadsági fokot is meg kell határozni, mely $f=(K-1)(G-1)$, ahol a K és a G a két változó lehetséges értékeinek száma **(Harnos és Ladányi, 2005)**. A vizsgálataink során a nullhipotézisünk a következő volt: a különböző fajta és permetezőszer kombinációk esetén a fertőzöttségi szint eloszlása megegyezik.

Fisher-féle egzakt próba: megegyezően az előző vizsgálati módszerhez itt is függetlenségvizsgálatot végzünk, de a kérdést olyan formában tesszük fel, hogy a két változó független-e egymástól. Tehát a nullhipotézisünk itt függetlenség. Amikor két bináris változóval dolgozunk, akkor a 2x2-es kontingencia táblázatra (gyakoriság táblázatra) a χ^2 -négyzet próba helyett a Fisher-féle egzakt próbát alkalmazzuk inkább. Ezt mindenképp így kell tenni, ha bizonyos cellákban a várt gyakoriságok kicsik, de egyéb esetben is jól használható **(Reiczigel és mtsai., 2007)**.

4. EREDMÉNYEK

A mintagyűjtést követően 55 alkalommal izoláltunk antraknózist előidéző kórokozót. Az izolátumok nagy részét meggyről (35 db gyümölcsökről, 7 db levelekről) gyűjtöttük, de bevontunk a vizsgálatokba más gazdanövények (alma, áfonya, banán, cseresznye, füge, húsos som, paradicsom, szamóca, szőlő) gyümölcséről származó mintákat is (**1. táblázat**).

4.1. Tünetek és gazdanövénykör

Meggy, cseresznye és húsos som gazdanövényeken a tüneteket ültetvényekben és házikertekben figyeltük meg. Az antraknózis jellegzetes tünetei legtöbbször hirtelen jelentek meg az érőfélben lévő terméseken, de egyes esetekben csak közvetlenül a szüret előtt alakultak ki. A fertőzött gyümölcsök epidermiszén először apró barna, fénytelen foltok jelentek meg, amelyek néhány nap alatt 1-2 cm átmérőjűre növekedtek. Meggy és som esetében gyakran a kocsány felőli részen alakultak ki az első tünetek (**8. ábra**), majd a rothadás onnan terjedt tovább. A foltok a húsba mélyedtek, alattuk a gyümölcshús barnult, rothadt (**8. ábra**). A foltokban megjelentek a gomba szaporítóképletei, a fekete acervuluszok, melyekből ragacsos, narancssárga színű konídiummassza tört elő. A fertőzött gyümölcsök elrothadtak, sőt néha a szüretre már össze is aszalódtak (**8. ábra**).



8. ábra Az antraknózis tünetei meggyen (A, B) és húsos somon (C, D)
(Fotók: Petróczy és Tóth, 2011-2012)

Füge (**9. ábra**), szamóca (**9. ábra**) és szőlő termésein nagykiterjedésű, barna, rothadó foltok jelentek meg, az áfonya gyümölcsei vizenyősen rothadtak és valamennyi esetben narancssárga konídiummassza borította a gyümölcsöket.

A tárolt almákon enyhén besüppedő, kerek, gyorsan növekvő, barna rothadó foltokat figyeltünk meg. A foltokban narancssárga konídiummassza képződött.



9. ábra Az antrakanózis tünetei füge (balra) és szamóca (jobbra) gyümölcssein
(Fotó: Salamon, 2011 és Tóth, 2012)

A paradicsom bogyóin a foltok nagy kiterjedésűek és vizenyősek voltak, nem barnultak. A fekete acervuluszok csak a foltok közepén jelentek meg. A konídium képzés intenzitása elmaradt a korábban megfigyeltektől (**10. ábra**).

A banánokon a besüppedő foltok sötétbarna színűek, oválisak, több cm átmérőjűek voltak. A foltok idővel összefolytak. Az acervuluszokban élénk narancssárga masszaként képződtek a konídiumok (**10. ábra**).



10. ábra Az antrakanózis tünetei paradicsomon (balra) és banánon (jobbra) (Fotók: Tóth, 2012)

4.2. Különböző gazdanövényről származó izolátumok morfológiai jellemzése

4.2.1. A konídiumok morfológiája

Minden izolátum esetében a mitospórák feketés színű acervuluszokban képződtek, méretük (0,2) - 0,5 - (0,6) mm, bennük szeták képződését egyetlen esetben sem figyeltük meg. Az acervuluszokból ragacsos narancssárgás masszaként törtek elő a tömegesen képződő konídiumok. A konídiumok sejt számukat tekintve egysejtűek, mikroszkóp alatt vizsgálva hialinok, faluk sima felületű, alakjuk kerekded-ellipszoid, bennük gyakran olajcseppek láthatók (**11. ábra**). Eltéréseket a konídiumok formáját illetően figyeltünk meg.

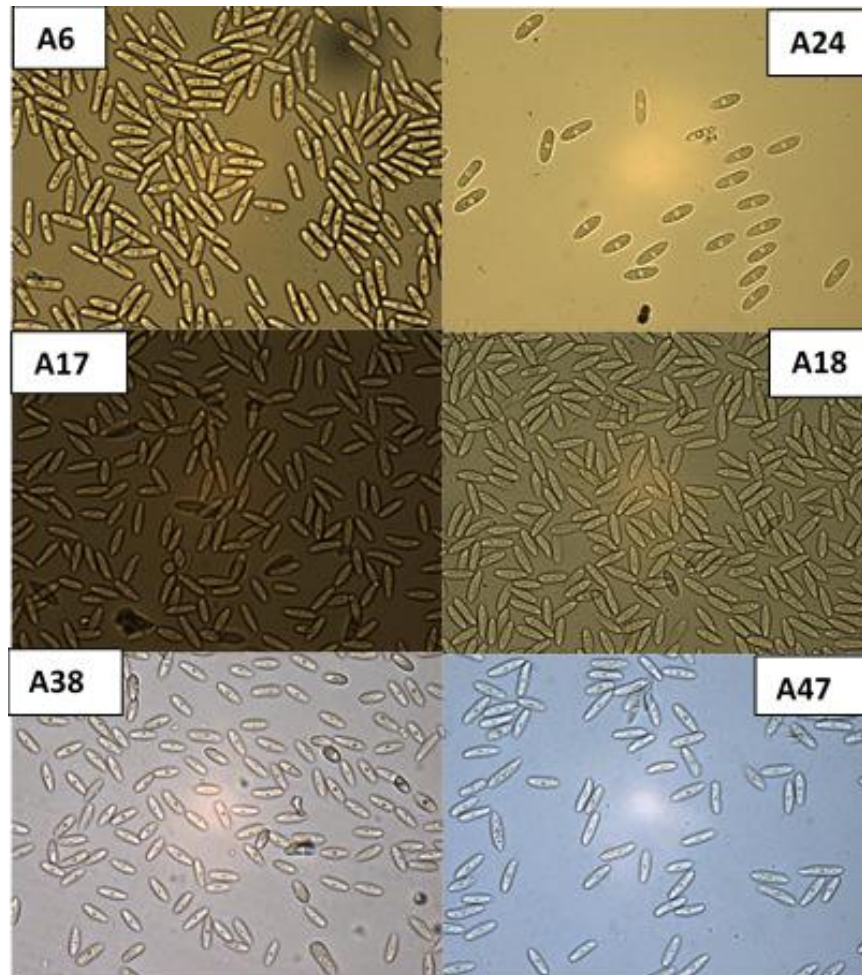
A különböző meggyfajtákról, a cseresznyéről és a szőlőről származó kórokozók konídiumainak morfológiája javarészt megegyezett. Alakjuk a legtöbb esetben hosszúkás, szivar alakú, némelyik enyhén befűződött (babapiskóta formájú) volt. A konídiumok vége általában lekerekített, néhány esetben egyik vagy mindkettő enyhén kihegyesedő (**11. ábra**). Az áfonyáról (A17), fügéről (A18), almáról (A19) és paradicsomról (A37) származó konídiumok hosszúkás, megnyúlt alakkal rendelkeztek, a konídiumok végei általában kihegyesedőek voltak. A húsos som (A16 és A38), a szamóca (A20, A43, A47, A48) és a banán (A39) gazdanövényekről származó izolátumok konídiumai rövidebbek, kevésbé megnyúltak, jellemzően ovális alakúak voltak (**11. ábra**).

A konídiumok átmérőjének átlagos mérete a vizsgált izolátumok átlagában $5,06 \mu\text{m}$ (**2. melléklet**). A legkisebb átlagos értéket a Sós-kútról, 'Újfehértói fürtös' (A12) fajtáról származó meggytermésekről származó kórokozó esetében mértük ($3,74 \mu\text{m}$). Az A12 izolátum konídiumai statisztikailag bizonyíthatóan is kisebbek voltak, mint a többi izolátum konídiuma. A legszélesebb konídiumokat a banánról származó izolátum (A39) esetében figyeltük meg ($6,87 \mu\text{m}$), melyek szignifikánsan különböztek a többi izolátum konídiumaitól.

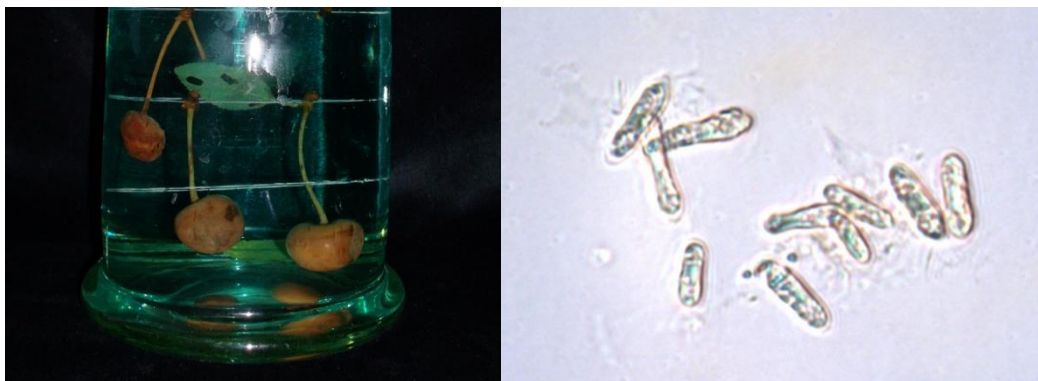
Az összes vizsgált izolátum konídium hosszúságának átlagos mérete $15,61 \mu\text{m}$ (**2. melléklet**). A legkisebb értéket a sós-kúti 'Újfehértói fürtös'-ről származó (A12), antraknózis tüneteit mutató meggytermésekről mértük ($8,58 \mu\text{m}$), amíg a leghosszabb konídiumokat a Püspökladányról származó szőlőről izolált kórokozó (A49) esetében figyeltük meg ($20,48 \mu\text{m}$). Statisztikailag értékelve a kapott eredményeket, az A12-es izolátum konídiumainak átlagos hosszúsága szignifikánsan kisebb volt a többi vizsgált izolátum konídiumához képest. Szignifikánsan a leghosszabb konídiumokat az A49-es izolátum esetében mértük.

1956-ból származó, antraknózis tüneteit mutató meggytermések vizsgálata

A Dr. Lehoczky János által gyűjtött meggytermések felszínéről (A0) – melyek az antraknózis tüneteit mutatták (**12. ábra**) – desztillált vízzel konídiumokat mostunk le és mikroszkóp alatt vizsgáltuk őket. A vizsgált konídiumok egysejtűek, hialinok, faluk sima felületű, alakjuk többnyire kerekded-ellipszoid (**12. ábra**). Hosszúságuk: $10,69\text{--}17,67 \mu\text{m}$ (átlagosan: $13,46 \mu\text{m}$), átmérőjük: $2,98\text{--}4,90 \mu\text{m}$ (átlagosan: $3,48 \mu\text{m}$).



11. **ábra** A konídiumok morfológiai változékonysága (Fotók: Tóth és Petróczy, 2011–2013)

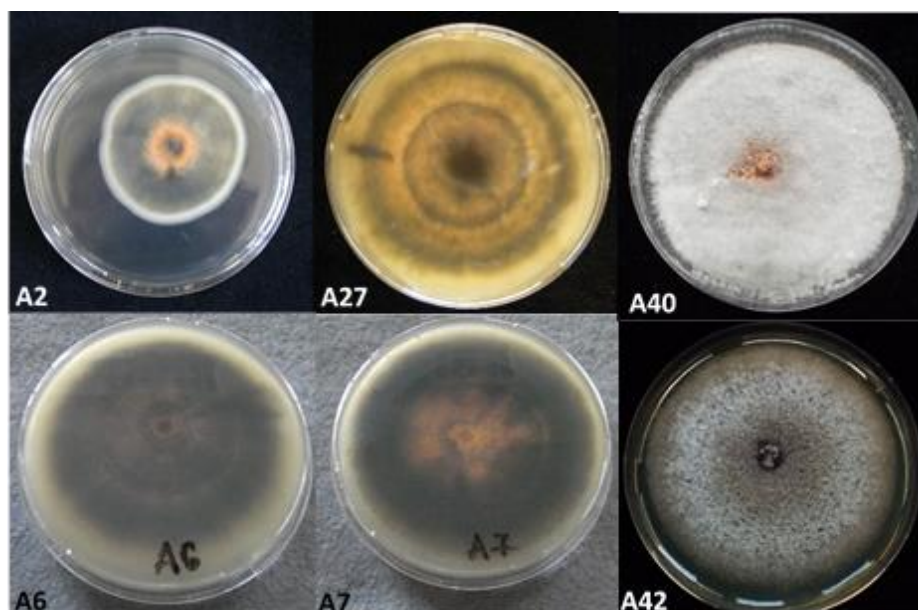


12. **ábra** A vizes preparátum (balra) és az arról származó konídiumok (jobbra)
(Fotók: Tóth, 2013)

4.2.2. A tenyészetek morfológiája

A tenyészbélyegeket akkor értékeltük, amikor a tenyészetek teljesen benőtték a Petri-csészéket, mely a legtöbb izolátum esetében a 13-14. napon következett be.

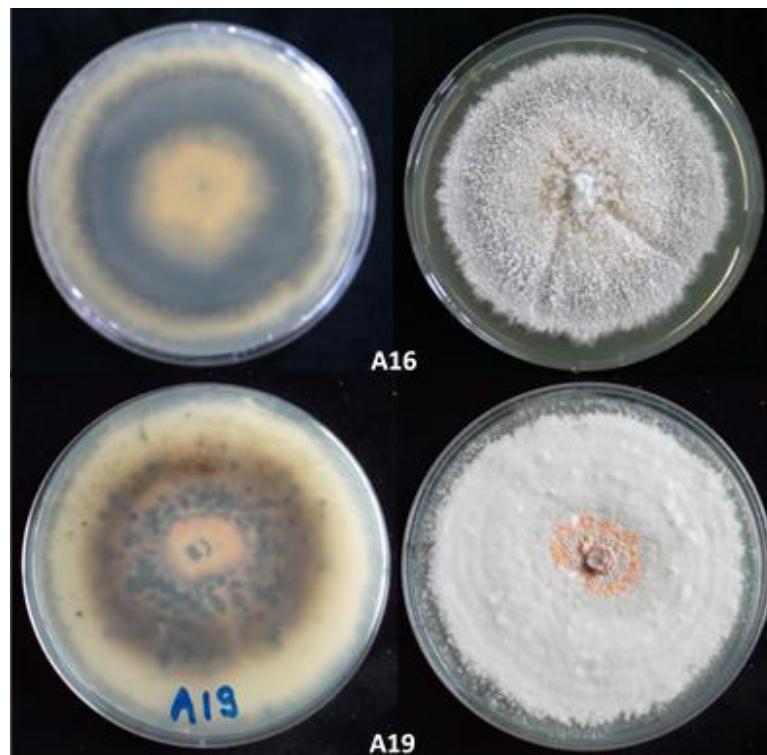
A különböző meggy fajtákról származó izolátumok esetében változatos tenyészetek fejlődtek. Valamennyi esetben megfigyeltük, hogy a leoltást követő 3-6. napon narancssárga szín jelent meg a táptalajban a leoltási pont körül (**13. ábra**). Ez a jellegzetes pigment képzés egyes izolátumok esetében megmaradt a kiértékelés végéig (A4, A5, A6, A7, A9, A13, A14, A15, A22, A33, A35, A36). Más izolátumoknál ez a szín eltűnt, mire a gomba tenyésze beötlte a Petri-csészét (A1, A2, A3, A8, A23, A24, A25, A26, A27, A28, A29, A30, A31, A32, A40, A41, A42, A44, A45, A46). A tenyészetek alapszíne sötétbarna vagy homokszürke, a tenyészet növekvő széle krémsárga színű volt (**13. ábra**). A tenyészetek felületén szürke színű légmicélium képződött és konídiumképződést is megfigyeltünk. Az A14, A15, A23, A26, A28, A29, A30, A31, A35, A36, A40, A41, A42 tenyészetek alapszíne krémsárga volt, felületükön világosszürke légmicélium és konídiumok képződtek. Néhány izolátum esetében koncentrikus mintázottság jelentkezett (A22, A24, A25, A27, A30, A33). Egyes izolátumok tenyészeiben erőteljes narancssárga konídiummassza képzést figyeltünk meg a tenyészetek színi oldalán, míg a többi esetben csak gyér konídiumképzés jelentkezett a légmicélium között. A tenyészetek minden esetben ép szélűek voltak (**13. ábra**). Meggyről és cseresznyéről származó izolátumok átlagos növekedési üteme (5,1) – 5,3 – (5,7) mm/nap volt. Az egymáshoz viszonyított növekedésben érdemi eltéréseket nem figyeltünk meg.



13. ábra Meggyről származó izolátumok tenyészbélyegei PDA táptalajon (Fotók: Tóth, 2011–2013)

A meggyről származó izolátumokhoz hasonló fenotípust figyeltünk meg az A16, A19 és A49-es izolátumok tenyészei esetében. Az A16-os izolátum húsos somról származott. A fiatal (5-7 napos) tenyészet rózsaszínes, a 13 napos tenyészet alapszíne világos narancssárga vagy púder színű volt. A köztes részben egy sötétebb barnásszürke gyűrű jelent meg. A tenyészet felszínén fehér színű, egyöntetű, gyapjas légmicélium képződött (**14. ábra**). A tenyészetek átlagosan 6,07 mm-t növekedtek naponta. A fiatalabb tenyészetekre jellemző világos szín az idősebb tenyészetekben eltűnt, a fonáki részük sötétté, földszínűvé vált. 3-4 hetes tenyészetekben elszórtan fekete micélium-tömörülések jelentek meg.

Az almáról izolált kórokozó (A19) tenyészete 12 nap alatt nőtte be a Petri-csészét. A tenyészet átlagos napi növekedése 6,5 mm/nap volt. A leoltási pont körül 1x1cm-es zónában narancssárga pigment képződés jelentkezett. A tenyészet enyhe koncentrikus mintázottságot mutatott. Egy sötétebb és egy világosabb sáv után a tenyészet legszéle krémsárga színű volt (**14. ábra**). Az idősebb tenyészetekben fekete micélium-tömörüléseket is megfigyeltünk. Felületén fehér, tömör légmicélium és a leoltási pont körül narancssárga konídiummassza jelent meg.



14. ábra Az A16-os (húsos somról származó) és A19-es (almáról származó) izolátumok tenyészvénye PDA táptalajon
(Fotók: Tóth, 2011–2012)

A szőlőről származó izolátum (A49) tenyészvénye hasonlóak a meggyről és cseresznyéről izolált kórokozóéhoz. A tenyészet alapszíne homokszürke, a leoltási pontnál narancssárga színű. A színi oldalon bolyhos légmicélium és koncentrikus gyűrűben narancssárga konídiummassza

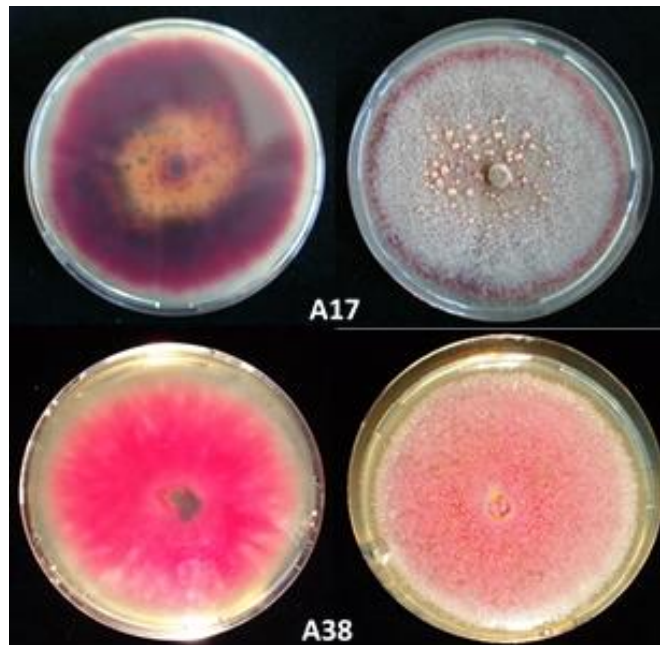
képződött. Idősebb tenyészetekben a fonáki oldalon fekete micélium tömörüléseket figyeltünk meg. A tenyészet átlagos napi növekedése 5,1 mm/nap volt.

A szamócáról származó izolátumokat (A20, A43, A47, A48) narancssárga színanyag-termelés jellemezte (**15. ábra**). A leoltási pont körül 5-6 cm-es átmérőben intenzívebb, azt követően világosabb szín dominált. A felületén piszkosfehér légmicélium és konídiumok képződtek. A tenyészetek átlagos napi növekedése 5,6 mm/nap volt.



15. ábra Az A48-as (szamócáról származó) izolátum tenyészbélyegei PDA táptalajon (Fotó: Tóth, 2013)

Más fenotípusú tenyészeteket figyeltünk meg az áfonyáról (A17), fűgéről (A18) és egy másik húsos somról (A38) származó izolátumoknál. Ebben az esetben erős, rózsaszínes-lilás színanyag-termelés jelentkezett. Az áfonyáról (A17) származó tenyészetnél a leoltási pont körül narancssárga pigment képződést is tapasztaltunk 2-3 cm-es átmérőben, a tenyészet nagy része azonban püspöklila színt vett fel. A tenyészet színi oldalát sötétszürke színű légmicélium borította és bőségesen képződtek konídiumok, narancssárga massa formájában (**16. ábra**). A fűgéről (A18) és húsos somról (A38) származó tenyészet alapszíne rózsaszínű volt. Felületükön világosszürke légmicélium és elszórtan narancssárga konídiummassza képződött (**16. ábra**). Ennek a 3 izolátumnak a tenyészete 3-4 hét eltelte után is megőrizte jellegzetes színét. Átlagos napi növekedésük 5,5 – 6 mm/nap volt.



16. ábra Az A17-es (áfonyáról származó) és A38-as (húsos somról származó) izolátumok tenyészbélyegei PDA táptalajon (Fotók: Petróczy, 2011 és Tóth, 2012)

A paradicsomról (A37) származó izolátum 8 nap alatt nőtte be a Petri-csészét. A tenyészet átlagos növekedése 9,75 mm/nap volt. A leoltási pont körüli 5-6 cm-es átmérőben a tenyészet fekete színű, növekvő széle világos krémsárga színű volt. Idősebb tenyészetek egynemű fekete színűek maradtak (**17. ábra**).

A banánról származó izolátum (A39) 4 nap alatt nőtte be a Petri-csészét, halvány narancssárga színt mutatott, a felületén a fehér légmicélium réteg pókhálószerűen alakult ki (**17. ábra**). A tenyészet átlagos növekedése 19,5 mm/nap volt. Az idősebb tenyészetek felületén konídiummassza képződést és fekete micélium-tömörüléseket figyeltünk meg.



17. ábra Az A37-es (paradicsomról származó) és A39-es (banánról származó) izolátumok tenyészbélyegei PDA táptalajon (Fotók: Tóth, 2012)

4.3. Patogenitási teszt

A patogenitási teszt során a 48 izolátummal inokulált eredeti gazdanövényeken a kórokozókra jellemző tüneteket figyeltünk meg. A meggyről származó izolátumok alma terméseket fertőzve, míg a levelekről származó izolátumok meggyterméseket fertőzve is patogénnek bizonyultak. Az izolált kórokozók valamennyi esetben sebzés nélkül, az epidermiszen keresztül fertőzték a gyümölcsöket. Kb. 12 nap elteltével jelentek meg, majd váltak egyre kiterjedtebbé a barna, besüppedő, rothadó foltok. Az egyes gyümölcsökön a gomba szaporítóképletei is megjelentek, melyekből ragacsos, narancssárga konídiumok törtek elő (**18. ábra**). A kórokozót sikeresen visszaizoláltuk az mesterségesen fertőzött termésekről, így a Koch posztulátumokat követve bizonyítottuk az izolált kórokozók megbetegítő képességét. A steril táptalajkorongokkal inokulált kontroll gyümölcsökön az értékelés napjáig nem jelentek meg fertőzésre utaló tünetek.



18. ábra A patogenitási teszt során jelentkező rothadás és konídiummassza alma (A19), meggy (A22) és szőlő (A49) gyümölcsökön (Fotók: Tóth, 2012–2013)

4.4. Az izolátumok meghatározása klasszikus mikológiai módszerekkel

A tünetek, a szaporítóképletek morfológiája és a tenyészbélyegek alapján megállapítottuk, hogy az izolált kórokozók *Colletotrichum* fajok. A legtöbb esetben valószínűsítettük, hogy az izolált kórokozók a *C. acutatum* fajkomplex tagjai lehetnek, a banánról és a paradicsomról származó kórokozók kivételével. A paradicsomról izolált kórokozót klasszikus mikológiai módszerekkel *C. coccodes*-ként, a banánról izolált kórokozót *C. musae*-ként határoztuk meg.

4.5. A kórokozók azonosítása molekuláris módszerrel

4.5.1. Azonosítás az ITS régió alapján

Az ITS régió (**3. melléklet**) alapján történő azonosítás során az ITS5 és NL4 univerzális primerek 1149-1152 bázispár hosszúságú szakaszt sokszoroztak meg a polimeráz láncreakcióban. A különbségek az egyes izolátumok szekvenciájában található deléciók miatt keletkeztek. Az izolátumok összehasonlítására a referencia izolátumokkal csak egy jóval rövidebb (538-543 bp hosszúságú) szakasz alapján nyílt lehetőség, mert az adatbázisban csak ilyen hosszúságú szakaszt töltöttek fel a vizsgált régióból.

A paradicsomról (A37), illetve banánról (A 39) származó kórokozók a *C. acutatum* fajkomplexbe tartozó fajok izolátumaitól elkülönültek. A nukleotid sorrend alapján a paradicsomról izolált kórokozó egyértelműen *C. coccodes*, a banánról izolált kórokozó pedig *C. musae* volt.

A vizsgált izolátumok közül 39 db (A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9, A10, A11, A12, A13, A16, A19, A22, A23, A24, A25, A26, A27, A28, A29, A30, A31, A32, A33, A34, A35, A40, A42, A43, A44, A45, A46, A49, A_L1, A_L2, A_L3) a *C. acutatum* fajkomplex egyik tagjával, a *C. godetiae* fajjal mutatta a legnagyobb hasonlóságot. Az A17, A18 és A38 izolátumok esetében a legnagyobb egyezés a *C. fioriniae* fajjal mutatkozott a fajkomplexeen belül. Az A15, A20, A41, A47 és A48-as izolátumok a *C. nymphaeae* fajhoz állnak legközelebb. Az A0 és A14-es izolátumok pedig a *C. nymphaeae* és *C. chrysanthemi* fajokkal mutatták a legnagyobb azonosságot (**19. ábra**).

Összehasonlítva az izolátumok nukleotid sorrendjét az adatbázisban szereplő, *C. acutatum* fajkomplexbe tartozó fajok referencia izolátumainak szekvenciájával, meggy gazdanövényről minden esetben a *C. acutatum* fajkomplexbe tartozó kórokozót izoláltunk, ám az ITS régió vizsgálata gyakran nem elegendő a pontos fajmeghatározáshoz.

4.5.2. Azonosítás a hiszton 3 gén szekvenciárészlete alapján

A régió vizsgálata során C.A.Histone3.for és C.A.Histone3.rev primerpárral kb. 350 bp hosszúságú PCR termék amplifikálódott. A célszekvencia kódoló részeket és intron szekvenciát egyaránt tartalmaz.

A vizsgált izolátumok közül a legtöbb (A0, A1, A2, A3, A5, A6, A7, A9, A13, A16, A19, A22, A23, A30, A31, A42, A43, A49) a *C. godetiae* fajjal mutatta a legnagyobb hasonlóságot. Az A15 és A48-as izolátumok a *C. nymphaeae* fajjal, az A18-as izolátum a *C. fioriniae* fajjal mutatta a legközelebbi rokonságot (**20. ábra**).

A kódoló részben megjelenő pontmutációk, aminosav szinten nem eredményeztek változást, így fehérjére lefordítva a génrészletet, aminosav szinten az izolátumok kivétel nélkül teljesen egyformák voltak.

A fehérje aminosav sorrendje valamennyi izolátum esetében:

APRKQLASKAARKSAPSTGGVKKPHRYKPGTVALREIRRYQKSTELLIRKLPFQRLVREI
AQDFKSDLRFQSSAIGALQESVESYLVSLFEDTNLCAIHAKRVTI.

4.5.3. Azonosítás a hiszton 3 gén és az ITS régió együttes vizsgálata alapján

Az ITS régiót és hiszton 3 gént együtt vizsgálva és ábrázolva az A1, A2, A3, A5, A6, A7, A9, A13, A16, A19, A22, A23, A30, A31, A42, A43 és A49-es izolátumok a *C. godetiae* fajjal mutatják a legközelebbi rokonságot. Az A18-as izolátum ebben az esetben is a *C. fioriniae* fajjal, míg az A15 és A48-as izolátumok a *C. nymphaeae* fajjal mutatnak egyezőséget. Az A0 izolátum elkülönülten helyezkedik el egy olyan ágon, amely később többfelé ágazik, magába foglalva több *Colletotrichum* faj mellett a *C. godetiae* fajt is (**21. ábra**).

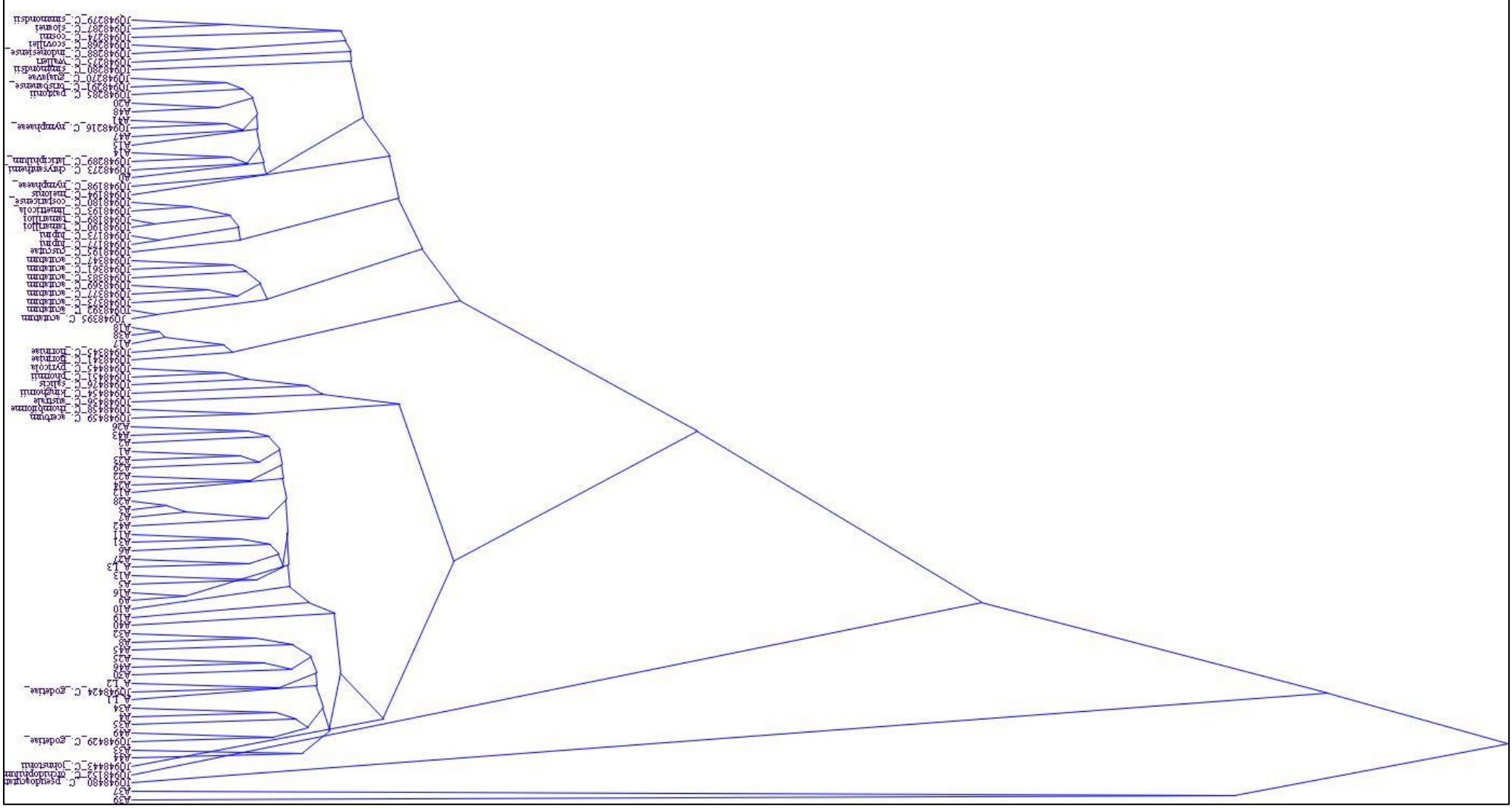
4.5.4. Azonosítás a kalmodulin gén szekvenciárészlete alapján

A kalmodulin gén vizsgálata során (**3. melléklet**) a CA_CAL1 és CA_CAL2 primerpárral kb. 800 bp hosszúságú PCR terméket amplifikáltunk. Az NCBI adatbázisból származó referencia izolátumokkal való összehasonlítás során csak egy rövidebb (370-380 bp hosszúságú) szakasz alapján vetettük össze a szekvenciákat.

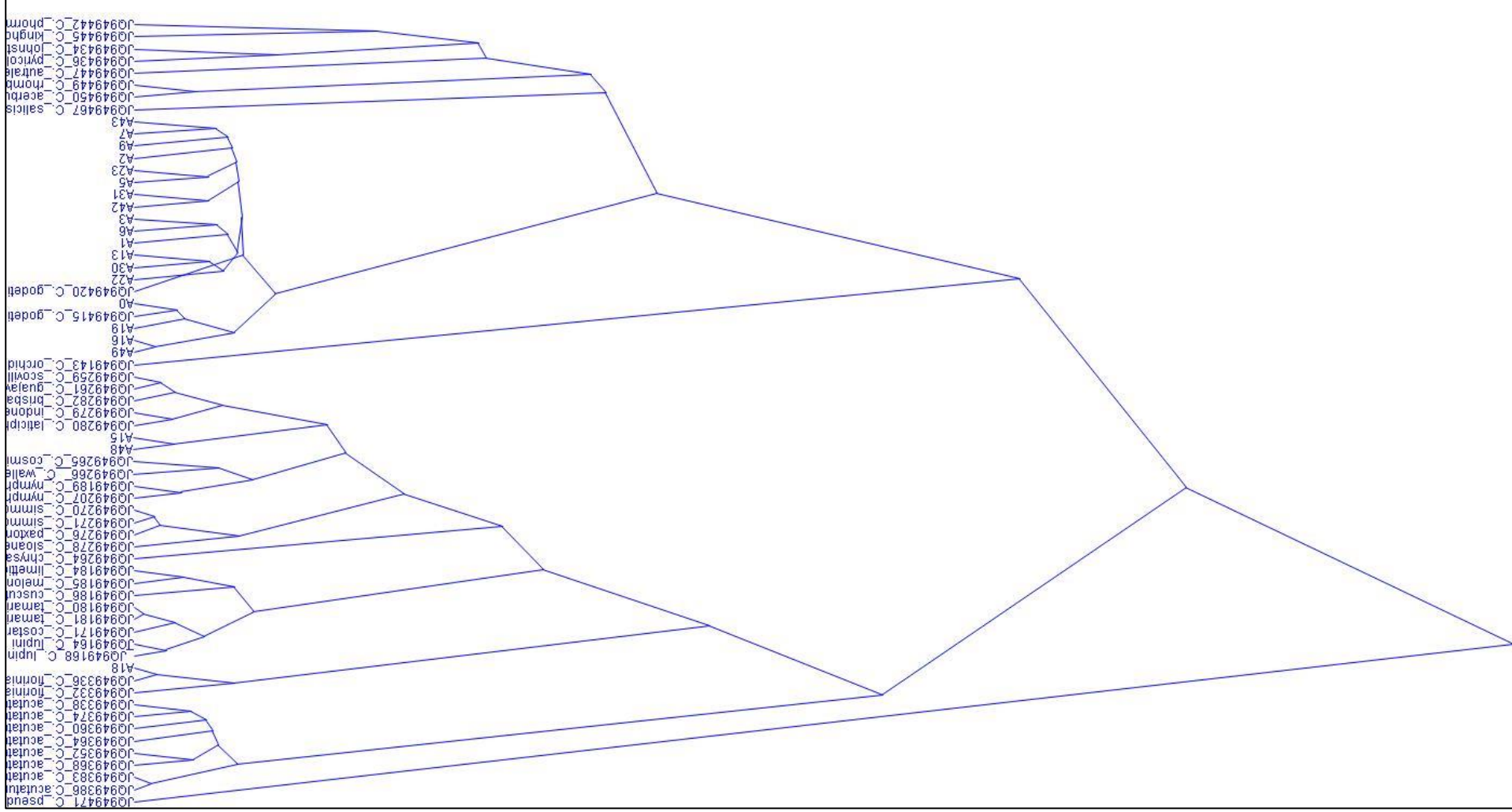
A törzsfá 2 ágra oszlik. A vizsgált izolátumok nagy része (A0, A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A9, A13, A16, A19, A22, A23, A30, A31, A40, A42, A43) a *C. godetiae* fajjal mutatja a legközelebbi rokonságot. A törzsfá másik ágán a *C. fioriniae* fajjal mutat hasonlóságot az A17, A18 és A38-as izolátum. Az A15, A41 és A48-as izolátumok külön ágon helyezkednek el (**22. ábra**).

A klasszikus mikológiai módszerek és a molekuláris azonosítás eredményei alapján a fajkomplexen belül a *C. godetiae* fajhoz tartoznak A0, A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9, A10, A11, A12, A13, A16, A19, A22, A23, A24, A25, A26, A27, A28, A29, A30, A31, A32, A33, A34, A35, A40, A42, A43, A44, A45, A46, A49, A_L1, A_L2, A_L3. Az A17, A18, A38 izolátumok a *C. fioriniae*, míg az A14, A15, A20, A41, A47, A48 izolátumok a *C. nymphaeae* fajhoz tartoznak. A gébanki azonosító számok a **4. melléklet**ben láthatók.

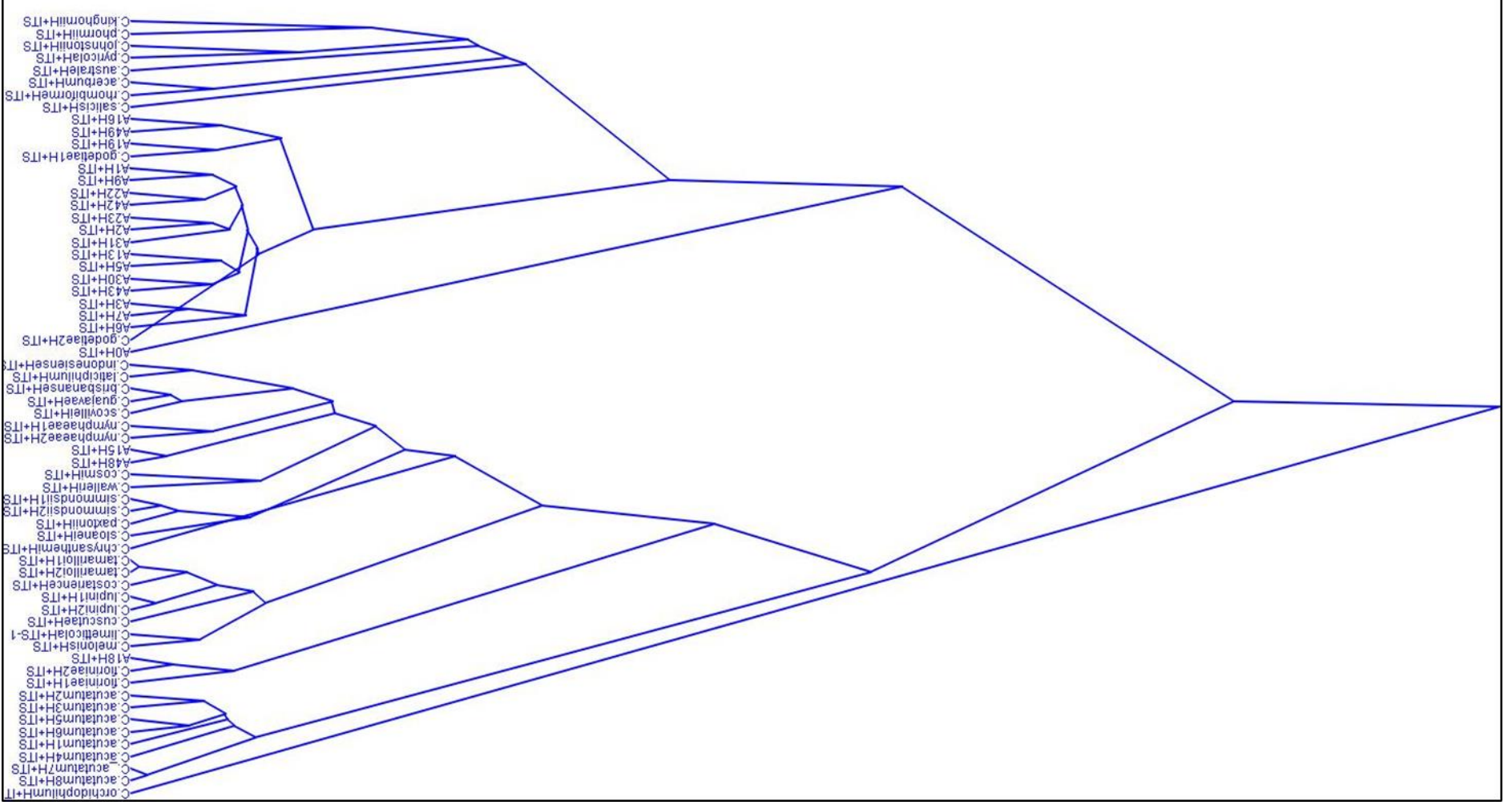
19. ábra *Colletrichum* izolátumok filogenetikai törzsfája az ITS régió szekvenciáriszlete alapján
Magyarázat: A törzsfa Jukes Cantor módszerrel készült. Az „A” jelű izolátumok a saját izolátumok a saját izolátumaink, a nemzetközi adatbázisból származó izolátumok a hivatkozási számmal együtt vannak feltüntetve.



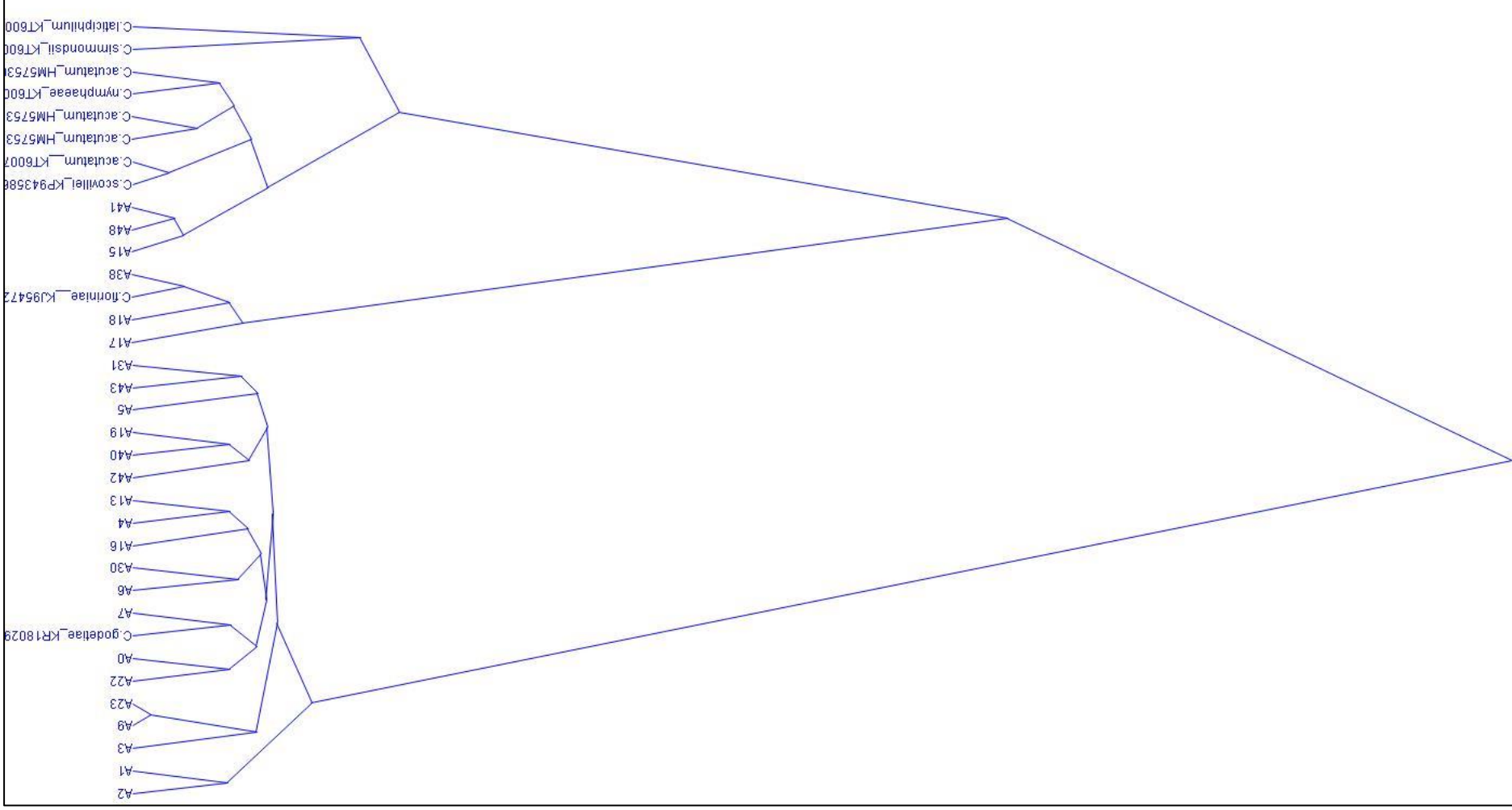
Magyarázat: A törzsfa Jukes Cantor módszerrel készült. Az „A” jelű izolátumok a saját izolátumok a saját izolátumaink, a nemzetközi adatbázisból származó izolátumok a hivatkozási számmal együtt vannak feltüntetve



21. ábra *Colletotrichum* izolátumok filogenetikai törzsfája az hiszon 3 gén és az ITS régió szekvenciája alapján
Magyarázat: A törzsfa Jukes Cantor módszerrel készült. Az „A” jelű izolátumok a saját izolátumaink, a nemzetközi adatbázisból származó izolátumok a hivatkozási számmal együtt vannak feltüntetve



22. ábra *Colletotrichum* izolátumok filogenetikai törzsfája a kalmódulin gén szekvenciája alapján
 Magyarázat: A törzsfa Jukes Cantor módszerrel készült. Az „A” jelű izolátumok a saját izolátumok a nemzetközi adatbázisból származó izolátumok
 a hivatkozási számmal együtt vannak feltüntetve



4.6. A meggyantraknózis kórokozójának biológiája

4.6.1. A kórokozó áttelelésének vizsgálata

A gomba áttelelését terméskocsányokon és gyümölcsmúmiákon számos tanulmány leírja. Hazai szakirodalom eddig nem számolt be a rügyeken való áttelelésről. 2010 márciusának elején Hajdúdorogon 'Újfehértói fürtös' fajtáról gyűjtöttünk vesszőket, illetve a fán maradt terméskocsányokat és gyümölcsmúmiákat. Nagy üveghengerekbe, vízbe állítottuk a vesszőket, vízzel spricceltük meg őket, majd letakartuk átlátszó nylonnal. Tíz nap elteltével megjelentek a kórokozó acervuluszai a terméskocsányokon, a gyümölcsmúmiákon és a rügypikkelyeken is, amelyekben tömegesen, masszaserűen képződtek konídiumok (**23. ábra**). A rügy belsejében nem találtunk szaporítóképleteket, csak a külső rügypikkelyeken.

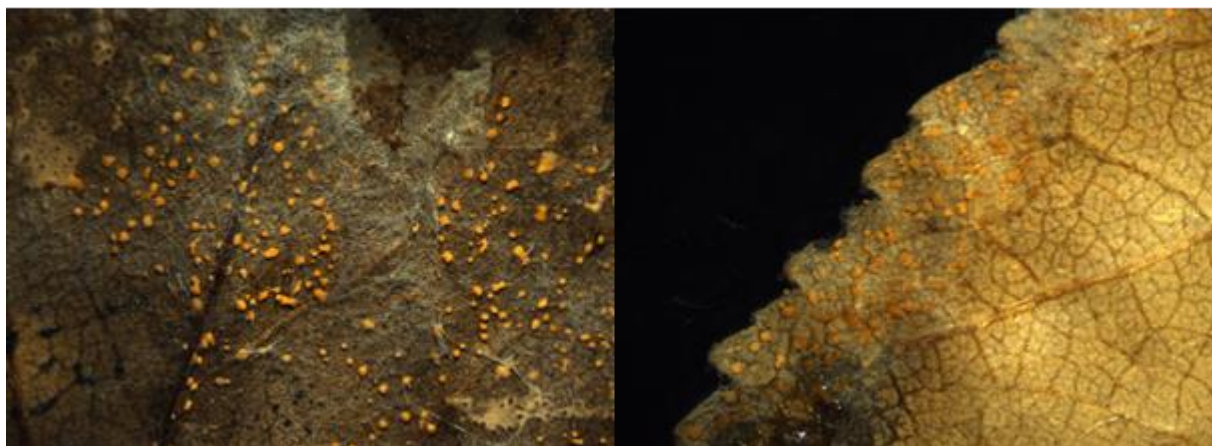


23. ábra Acervuluszok a rügypikkelyeken és terméskocsányokon (Fotó: Petróczy, 2010)

4.6.2. A kórokozó tünetmentes fertőzése meggyleveleken

A lajosmizsei és a soponyai meggyültetvényekből származó, tünetmentes leveleken kimutattuk a meggyantraknózis kórokozójának jelenlétét. A leveleken 9-12 (átlagosan 10) nap inkubációt követően jelent meg a jellegzetes, narancssárgás színű konídiummassza a levelek színi és fonáki oldalán egyaránt (**24. ábra**).

A módszer pontosítására irányuló vizsgálataink megfigyelései szerint, az 1 h időtartamú fagyasztás nem bizonyult elegendőnek a gomba sporulációjának indukálására, mert egyetlen levél felületén sem jelentek meg a későbbiekben konídiumok. Ötórányi fagyasztás után vélhetően már a kórokozó micéliuma is károsodott, mert a későbbiekben jelentősen visszaesett a kórokozó sporulációjának gyakorisága a leveleken. A legmagasabb gyakorisági értékeket 4 óra fagyasztást követően tapasztaltuk, így további vizsgálatok során már csak 4 órán át fagyasztottuk a leveleket a konídium képzés elősegítésére.

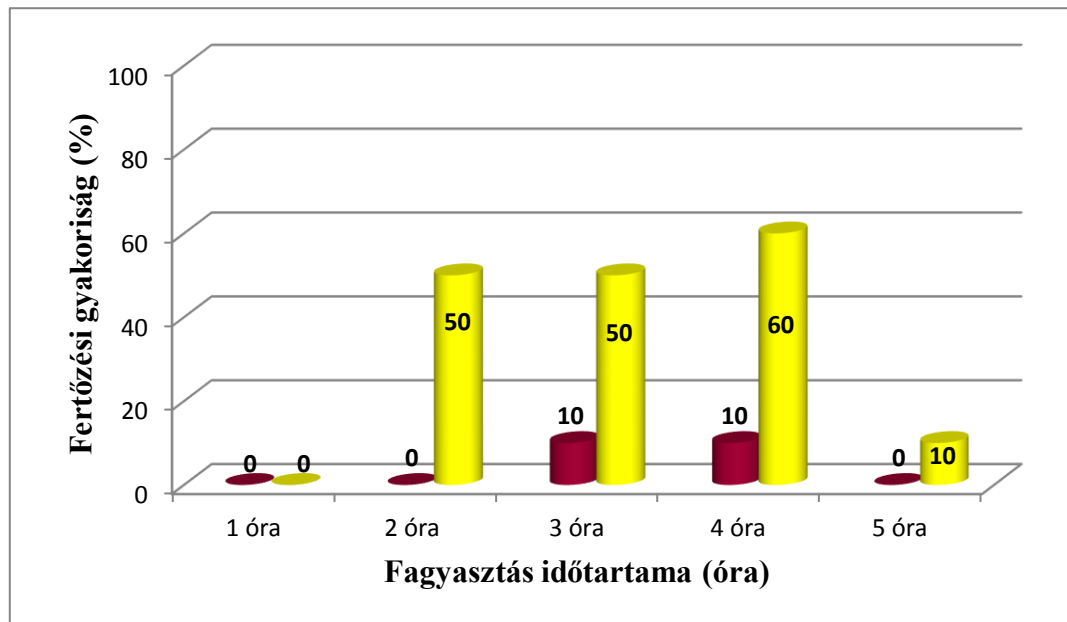


24. ábra A meggyantraknózis kórokozójára jellemző narancssárga konídiummassza meggylevelek színén és fonákán, a sporuláció mesterséges indukálását követő 11. napon (Fotók: Tóth, 2012)

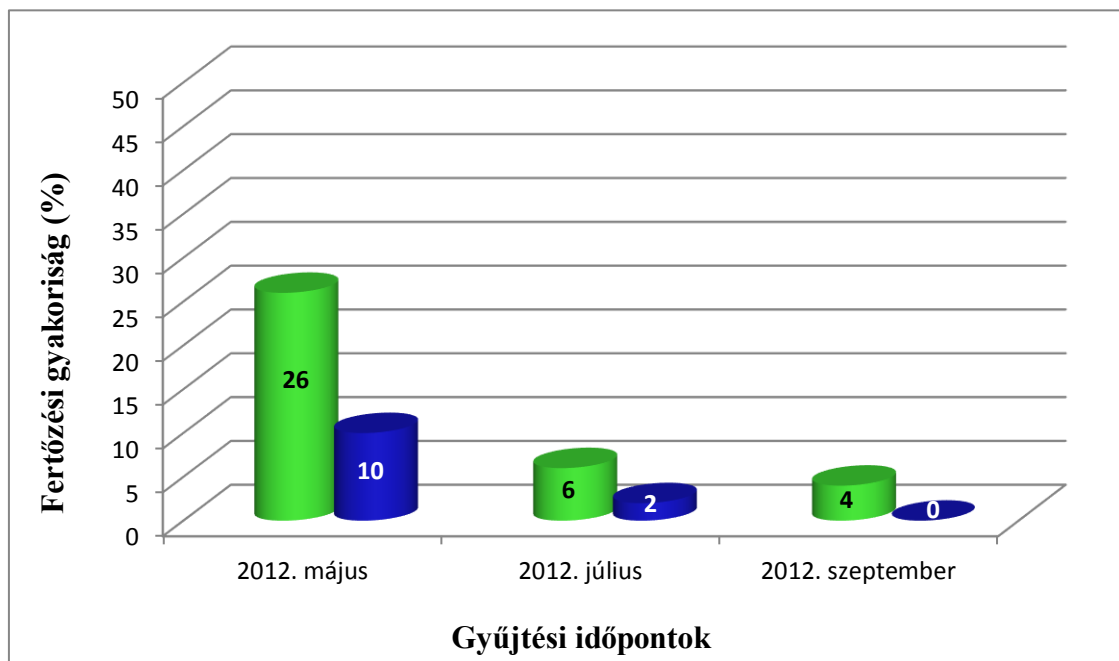
A soponyai ültetvényből származó 'Érdi jubileum' és 'Újfehértói fürtös' fajtákat összevetve az 'Érdi jubileum' levelein jelentősen magasabb volt a kórokozó látens fertőzésének gyakorisága (**25. ábra**). Az 'Újfehértói fürtös' fajta esetében csak egy-egy levélen (a 3 és 4 órás fagyasztás után) jelent meg sporuláció. Ebben az ültetvényben a 2012-es év száraz időjárása ellenére is igen magas termés fertőzöttség alakult ki.

A lajosmizsei felhagyott ültetvényben – ahol évek óta nem végeznek semmilyen növényvédelmi tevékenységet – háromszor gyűjtöttünk levélmintát a vizsgálathoz. 'Újfehértói fürtös' fajtán 2012-ben, a májusi gyűjtés alkalmával volt a legmagasabb a kórokozó gyakorisága. A levelek 20%-án jelent meg a kórokozó főtünete (**26. ábra**). Megfigyeléseink szerint a lombkorona belsejéből származó leveleken gyakrabban fordult elő a kórokozó látens fertőzése, mint a lombkorona külső részén elhelyezkedő leveleken. Ez valószínűleg a lombkorona mikroklímájával áll összefüggésben, hiszen a kórokozó számára a magas páratartalom elengedhetetlen a fertőzéshez és a szaporodáshoz. A nyári (2012. júliusi) és kora őszi (2012. szeptemberi) gyűjtés alkalmával jelentősen lecsökkent a kórokozó gyakorisága a leveleken. Ősszel már csak 1-1 levélről mutattuk ki a kórokozót (**26. ábra**). A kórokozó gyakoriságának csökkenése a 2012-es év száraz, aszályos időjárásával is magyarázható.

A sóskúti ültetvényből származó levélminták esetében egyetlen levél felületén sem figyeltük meg konídiumok képződését, vagy a kórokozó jelenlétére utaló bármilyen más elváltozást. Az eredmény annak tulajdonítható, hogy a területen a 2010-es extrém csapadékos év óta, kifejezetten az antraknózis ellen irányuló kezelésekkel (terméskötődéstől, termésérésig) bővítették az amúgy is szakszerű növényvédelmi technológiát. A terméskötődés alatt alkalmazott kontakt, illetve felszívódó készítmények megakadályozták, hogy a gomba kolonizálja a levelek szöveteit.



25. ábra A *C. acutatum sensu lato* fertőzési gyakorisága a Soponyáról származó tünetmentes meggyleveleken (bordó színnel az 'Újfehértói fürtös', sárga színnel az 'Érdi jubileum' fajtát jelöltük)



26. ábra A *C. acutatum sensu lato* fertőzési gyakorisága a Lajosmizséről származó tünetmentes meggyleveleken (zöld színnel jelölve a lombkorona belsejéből, kék színnel jelölve a lombkorona külső részéről származó levelek adatait jelöltük)

4.6.3. A kórokozó azonosítása a tünetmentes levelekről

A tünetmentes leveleken megjelenő konídiumokból 7 esetben izoláltuk a kórokozót (**11. táblázat**). Citoplaszt mikroszkóppal vizsgálva a tünetmentes meggy leveleken megjelenő szaporítóképleteket, megállapítottuk, hogy a konídiumok egysejtűek, megnyúltak, hosszúkásak,

végük lekerekített vagy ritkábban kihegyesedő. Színüket tekintve hialinok, bennük egy vagy több (leggyakrabban 2) olajcsepp látható (**27. ábra**).

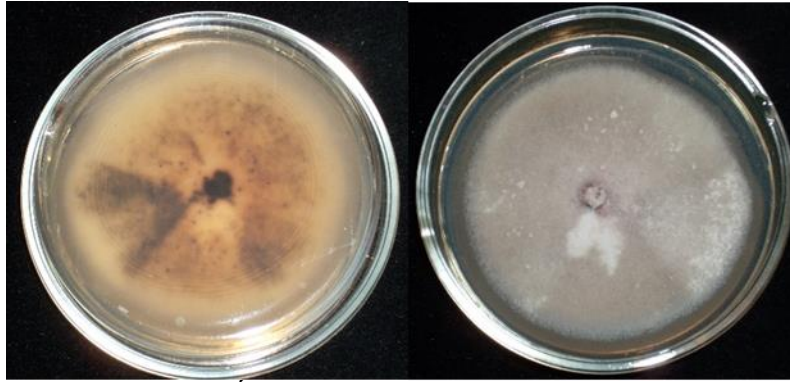
11. táblázat Tünetmentes meggylevelekről gyűjtött izolátumok jellemző adatai

Izolátum kódja	Származási hely	Meggyfajta	Megjegyzés
A_L1	Soponya	'Érdi jubileum'	2 órás fagyasztást követően
A_L2	Soponya	'Érdi jubileum'	4 órás fagyasztást követően
A_L3	Soponya	'Érdi jubileum'	5 órás fagyasztást követően
A_L4	Lajosmizse	'Újfehértói fürtös'	2 órás fagyasztás, júliusi minta
A_L5	Lajosmizse	'Újfehértói fürtös'	3 órás fagyasztás, júliusi minta
A_L6	Lajosmizse	'Újfehértói fürtös'	5 órás fagyasztás, júliusi minta
A_L7	Lajosmizse	'Újfehértói fürtös'	2 órás fagyasztás, augusztusi minta



27. ábra A lajosmizsei ültetvényből származó tünetmentes levélen képződött konídiumok (A_L5)
(Fotó: Ujvári, 2012)

PDA táptalajon izolálva a kórokozót egységes tenyészbélyegeket figyeltük meg. A tenyészetek fonáki része kezdetben világosszürke színű volt, majd szürkévé, barnás-szürkévé vált. A tenyészetek széle ép volt, gyakran enyhe koncentrikus mintázottságot mutattak. A leoltási pont körül narancssárgás szín jelent meg, ami a tenyészet öregedésével egyes tenyészeteknél eltűnt (**28. ábra**). A tenyészetek felszínén szürke színű gyapjas légmicélium képződött, amely a tenyészet szélén és a leoltási pont körül figyelhető meg legjobban. A tenyészetekben konídium képződését tapasztaltunk. A kórokozó tenyészei átlagosan napi $5,1 \pm 1,2$ mm növekedtek. A kórokozó izolátumainak egymáshoz viszonyított növekedésében érdemi eltérést nem figyeltünk meg.



28. ábra Soponyai ültetvényből 'Érdi jubileum' fajta tünetmentes leveleiről izolált kórokozó (A_L1) tenyészbélyegei PDA táptalajon (Fotók: Tóth, 2012)

A konídiumok morfológiáját és a levelekről származó tenyészetek jellemzőit összevetve a 2011-ben és 2012-ben meggyantaknózis kórokozójával fertőzött termésekről származó izolátumokkal, valamint az ITS régió szekvenciája alapján megállapítottuk, hogy a levelekről izolált kórokozó a *C. acutatum* fajkomplex tagja (= *C. acutatum sensu lato*). Az izolátumokkal sikeresen fertőztünk érett meggyterméseket (ld. 4.3. Patogenitási teszt).

4.7. Meggyfajták fogékonyságának *in vitro* vizsgálata

4.7.1. Meggyfajták fogékonyságának vizsgálata fenológiai fázis szerint

A fiatal terméseket (kötődés után 6-11 nappal) mesterségesen fertőzve, csak a 'Kántorjánosi' fajta esetében alakultak ki tünetek (**29. és 30. ábra**), a többi fajta ebben a fenológiai stádiumban nem fertőződött. A 'Kántorjánosi' fajta zöldborsó nagyságú gyümölcsein hat nappal a mesterséges fertőzést követően, az A5-ös izolátum a termések 60%-án barnulást okozott (**30. ábra**). A foltokban narancssárga konídiummassza képződött. A kórokozó terjedésével a nekrozis és a főtünet a termések kocsányán is megjelent (**29. ábra**).

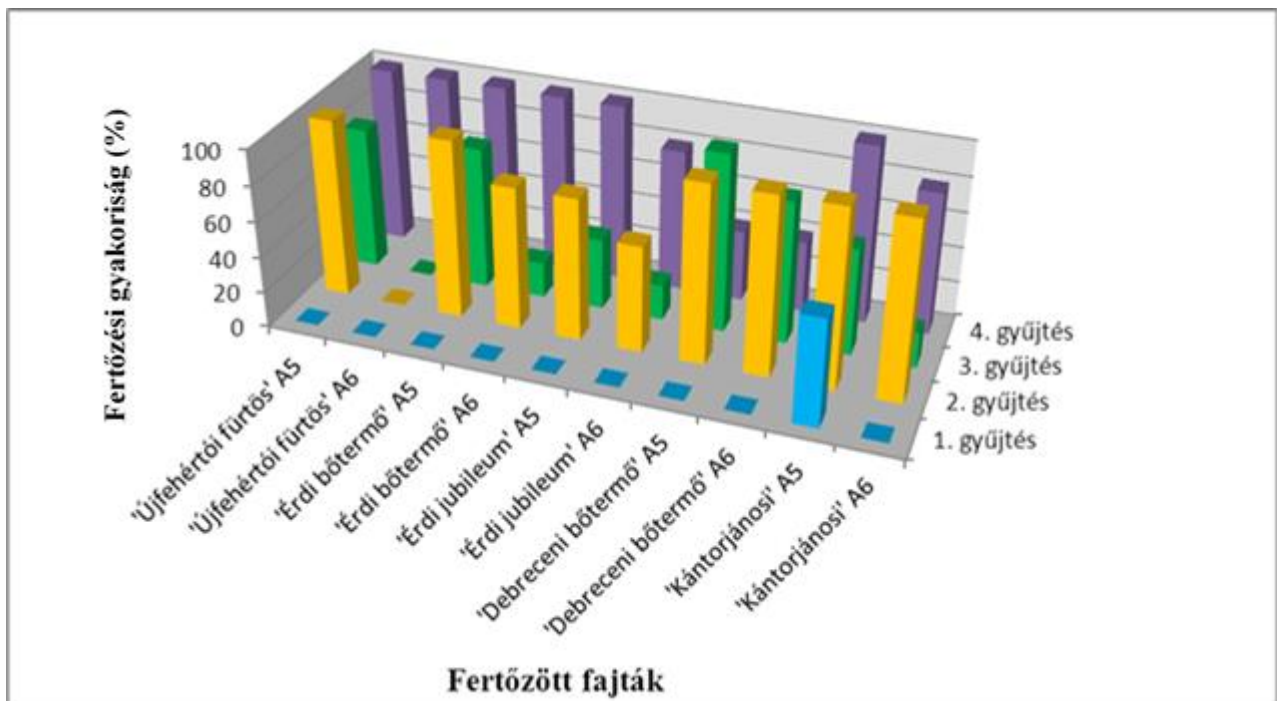


29. ábra Az A5-ös izolátum okozta tünetek a 'Kántorjánosi' fajtán 10 nappal az inokulációt követően (Fotó: Tóth, 2012)

Az intenzív növekedés fázisában (a kötődést követően 14-19 nappal) már valamennyi fajta fertőzhető volt mesterségesen a kórokozóval, kizárólag az 'Újfehértói fürtös' fajta növekvő gyümölcseit nem fertőzte az A6-os izolátum. A 'Debreceni bőtermő' és a 'Kántorjánosi' fajták esetében mindkét izolátum 100%-ban fertőzte a gyümölcsöket. Az 'Érdi bőtermő', az 'Érdi jubileum' és az 'Újfehértói fürtös' esetében az A5-ös izolátum virulensebbnek mutatkozott (**30. ábra**), nem csak a fertőzési gyakoriság, hanem a nekrozis átmérője és a sporuláció tekintetében is.

A következő fertőzés alkalmával a termések már csaknem elérték végleges méretüket, de színüket tekintve még zöldek voltak. Az inokulációt követő fertőzési gyakoriságok csökkentek a második gyűjtéshez képest (**30. ábra**). Ennek oka az ültetvényben felszívódó fungiciddal végzett növényvédelmi kezelés lehetett, amelyet a gyűjtést megelőzően 3 nappal végeztek. A 'Debreceni bőtermő' gyümölcsei azonban még ebben az esetben is 100%-ban megbetegedtek az A5-ös izolátummal végzett mesterséges fertőzést követően. Az 'Újfehértói fürtös' fajtán az A6-os izolátum ebben az időpontban sem okozott tüneteket (**30. ábra**).

A színesedő terméseket mesterségesen fertőzve a 'Debreceni bőtermő' esetében az előző gyűjtésekhez képest csökkent a fertőzött szemek aránya mindkét izolátummal végzett fertőzést követően, míg a többi fajta esetében a gyümölcsökön 80-100%-os volt a fertőzöttség (**30. ábra**).

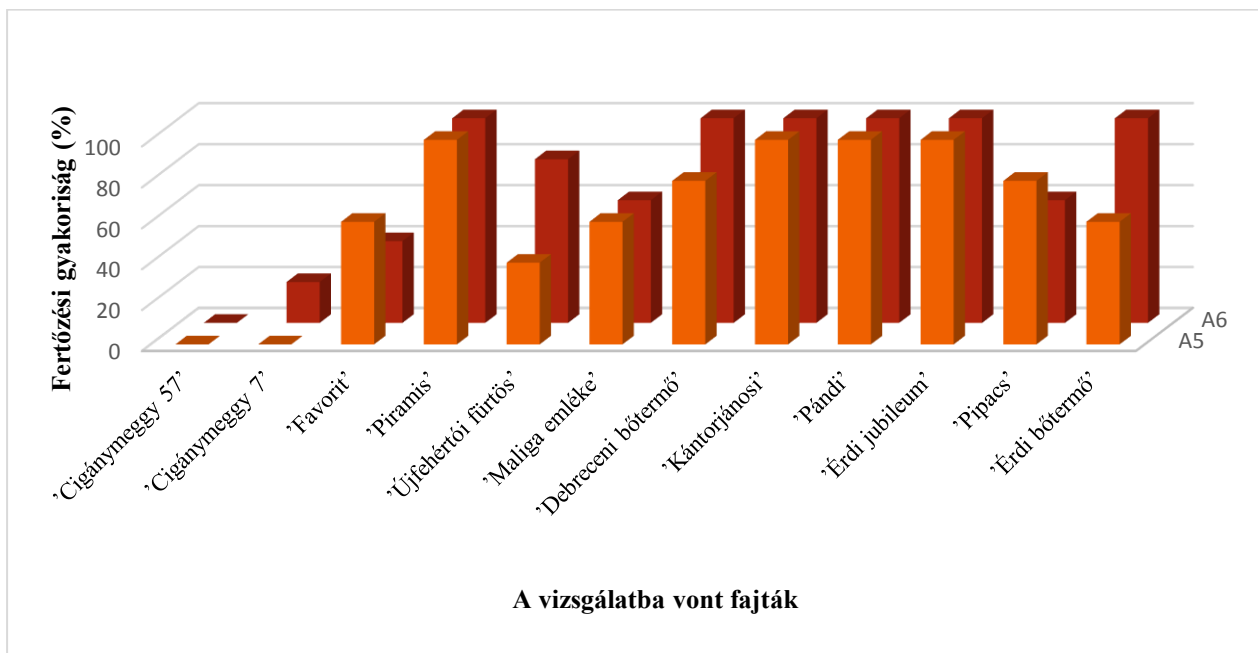


30. ábra A termesztett öt fő meggyfajta fogékonysága a fenológiai stádium függvényében mesterséges fertőzést követően (Magyarázat: A fajták neve után az izolátum jelölése látható, amellyel az inokulációt végeztük (A5, A6); 1. gyűjtés: zöldborsó méretű gyümölcs, 2. gyűjtés: intenzív növekedés fázisa, 3. gyűjtés: bogyóérés kezdete, 4. gyűjtés: szüret előtt 5 nappal)

4.7.2. A kecskeméti fajtagyűjteményből származó meggyfajták fogékonyságának vizsgálata

Kecskemétről – a fajtagyűjteményből – május végén gyűjtött gyümölcsökön az első tünetek már hat nappal a mesterséges fertőzést követően megjelentek néhány fajta esetében: 'Érdi bőtermő', 'Érdi jubileum', 'Kántorjánosi', 'Pipacs' és 'Piramis'. A többi fajtánál a tünetek 10±1 nap elteltével alakultak ki.

A mesterséges fertőzés eredményei alapján toleráns fajtának bizonyult a 'Cigánymeggy 57', amelyen egyik izolátum sem tudott tüneteket okozni és a 'Cigánymeggy 7'-es klónja, amelynél az A6-os izolátum csak egyetlen 1 gyümölcsön okozott tünetet. Vizsgálataink alapján fogékonynak bizonyult a 'Favorit', a 'Maliga emléke', az 'Érdi bőtermő', a 'Debreceni bőtermő', a 'Pipacs' és az 'Újfehértói fürtös'. Nagyon fogékonynak az 'Érdi jubileum', a 'Kántorjánosi' és 'Pándy' fajtákat találtuk, hiszen mindkét izolátum esetében 100%-os termésfertőzöttség alakult ki (31. ábra).



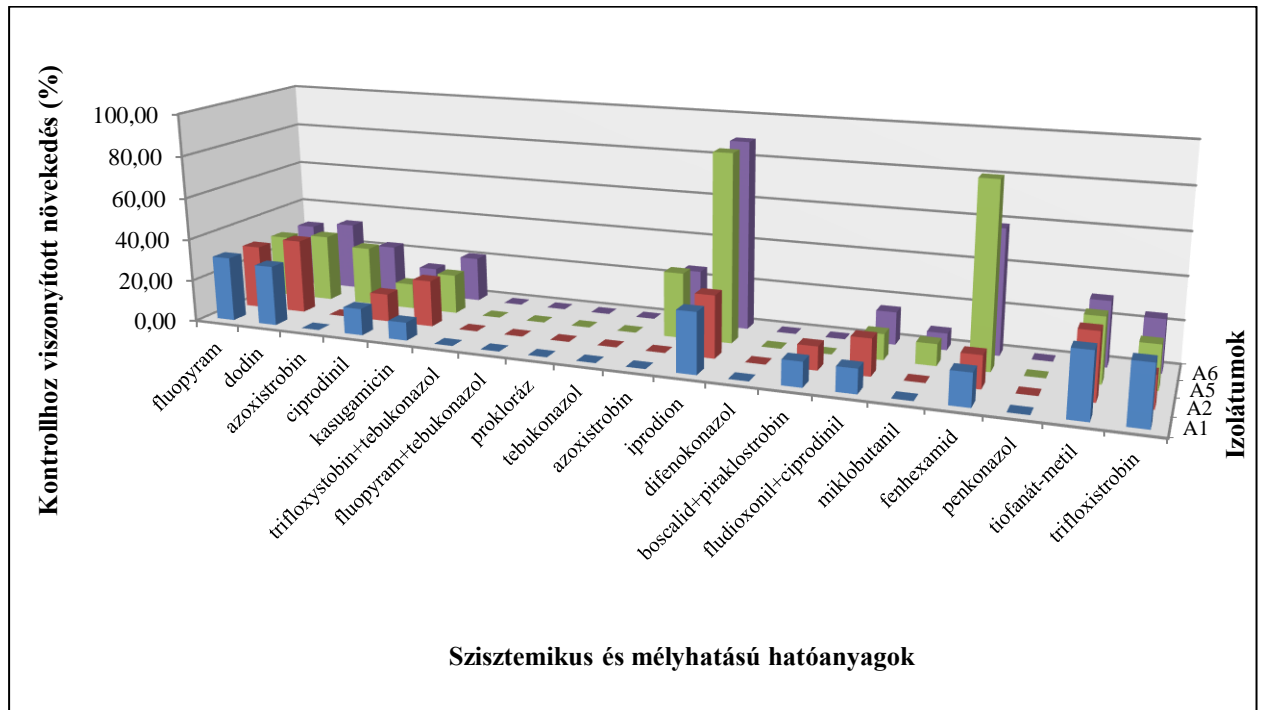
31. ábra A vizsgált meggyfajták fogékonysága a meggyantraknózis kórokozójának A5-ös és az A6-os izolátumával szemben, mesterséges fertőzés alapján

4.8. A növényvédő szerek hatékonysága a meggyantraknózis kórokozójával szemben laboratóriumi körülmények között

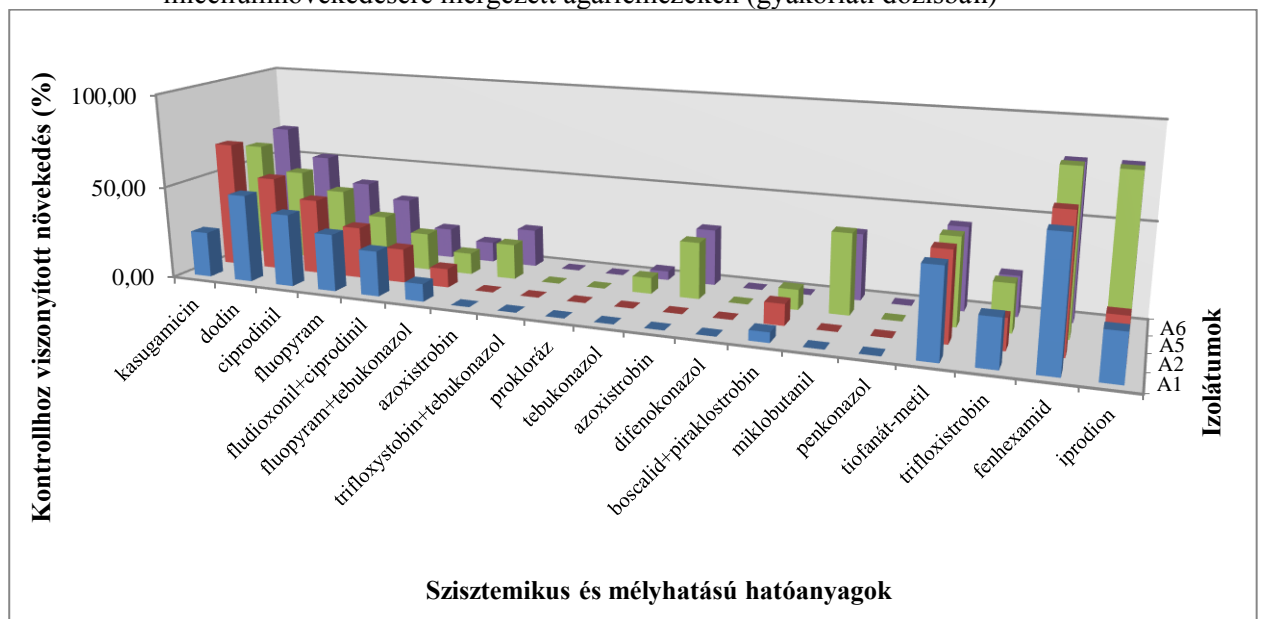
4.8.1. Szisztémikus és mélyhatású készítmények hatása a micélium növekedésére

A 37 különböző növényvédő szer micélium növekedésre gyakorolt hatását *in vitro* vizsgálva, az egyes készítmények között jelentős különbségeket tapasztaltunk. A szisztémikus és mélyhatású hatóanyagok közül gyakorlati dózisban és 10x-es hígításban mind a négy izolátum tekintetében

teljes gátlást figyeltünk meg a micélium növekedésére a trifloxystrobin+tebukonazol, a prokloráz, a difenokonazol és a penkonazol esetében. A fluopyram+tebukonazol és a tebukonazol hatóanyagok csak gyakorlati dózisban rendelkeztek fungicid hatással. Az azoxistrobin, boscalid+piraklostrobin, miklobutanil hatóanyagok csak az A1-es és az A2-es izolátum micéliumának növekedését gátolták. Az A5-ös és A6-os izolátumok növekedésnek indultak a táptalajon. A leggyengébb eredményeket a fluopyram, az iprodion és a fenhexamid hatóanyagokkal érték el (32. és 33. ábra).



32. ábra A szisztémikus és mélyhatású hatóanyagok gátló hatása a *C. acutatum sensu lato* micéliumnövekedésére mérgezett agarlemezeken (gyakorlati dózisban)



33. ábra A szisztémikus és mélyhatású hatóanyagok gátló hatása a *C. acutatum sensu lato* micéliumnövekedésére mérgezett agarlemezeken (10x-es hígításban)

A többváltozós varianciaanalízis és az általunk alkalmazott kiegészítő módszerek használatával kapott elemzés eredményei alapján megállapíthatjuk, hogy a szisztemikus és mélyhatású készítmények tekintetében szignifikáns eltérés csak egy-egy esetben figyelhető meg az izolátumok között (**12. táblázat**). Egyedül az A5-ös izolátumra hatott szignifikánsan eltérő mértékben a Teldor 500SC (fenhexamid) és a Systhane duplo (miklobutanil). A készítmények 10x hígításában szintén a Lajosmizséről származó A5-ös izolátum mutatott szignifikáns eltérést a Luna Experience (fluopyram+tebukonazol) fungicid esetében.

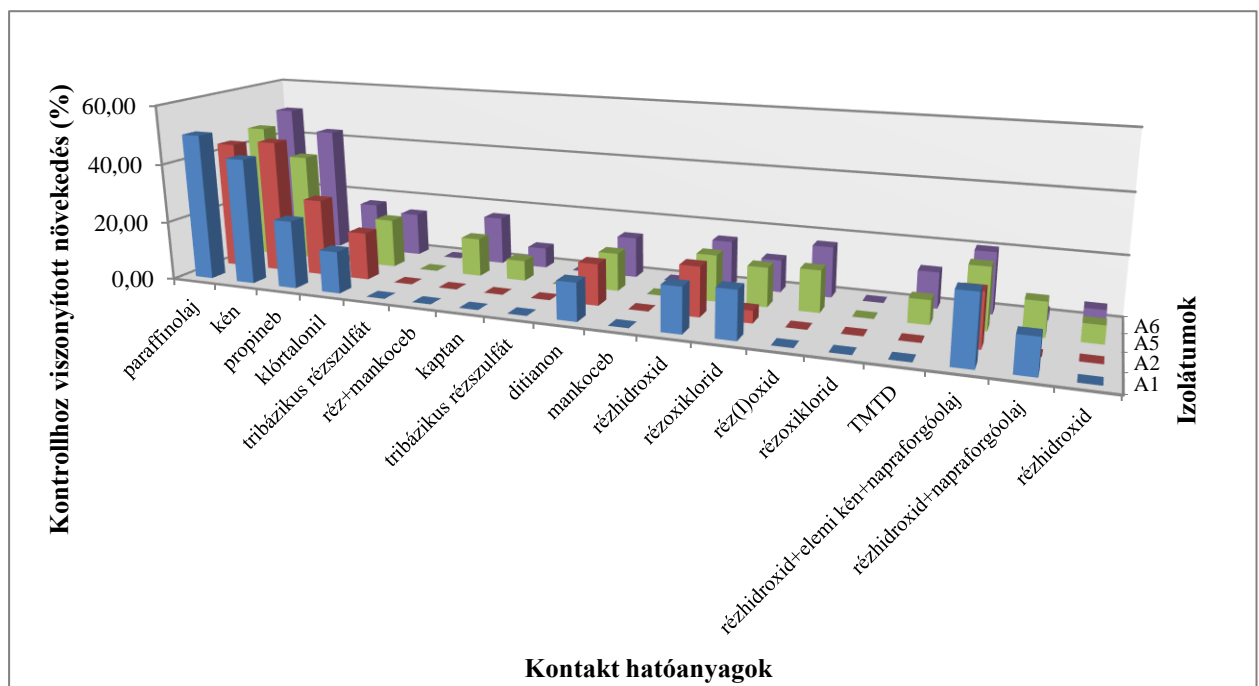
12. táblázat Az izolátumok csoportosítása a szignifikancia szintek alapján a szisztemikus és mélyhatású növényvédő szerek esetében

	A1	A2	A5	A6
Amistar (azoxistrobin)	a	a	b	b
Quadris (azoxistrobin)	a	a	b	b
Rovral Aquaflo (iprodion)	a	a	b	b
Signum WG (boscalid+piraklostrobin)	b	b	a	a
Systhane duplo (miklobutanil)	a	a	c	b
Teldor 500SC (fenhexamid)	a	a	c	b
Zato 50WG (trifloxistrobin)	b	a	ab	b
Amistar 10x (azoxistrobin)	a	a	b	b
Chorus 50WG 10x (ciprodinil)	ab	b	ab	a
Efuzin 500FW 10x (dodin)	a	ab	ab	b
Luna Experience 10x (fluopyram+tebukonazol)	a	ab	c	bc
Quadris 10x (azoxistrobin)	a	a	b	b
Rovral Aquaflo 10x (iprodion)	a	a	b	b
Signum WG 10x (boscalid+piraklostrobin)	ab	b	ab	a
Switch 62,5WG 10x (fludioxonil+ciprodinil)	b	ab	ab	a
Systhane duplo 10x (miklobutanil)	a	a	b	b
Teldor 500SC 10x (fenhexamid)	a	ab	c	bc
Zato 50WG 10x (trifloxistrobin)	b	a	b	ab

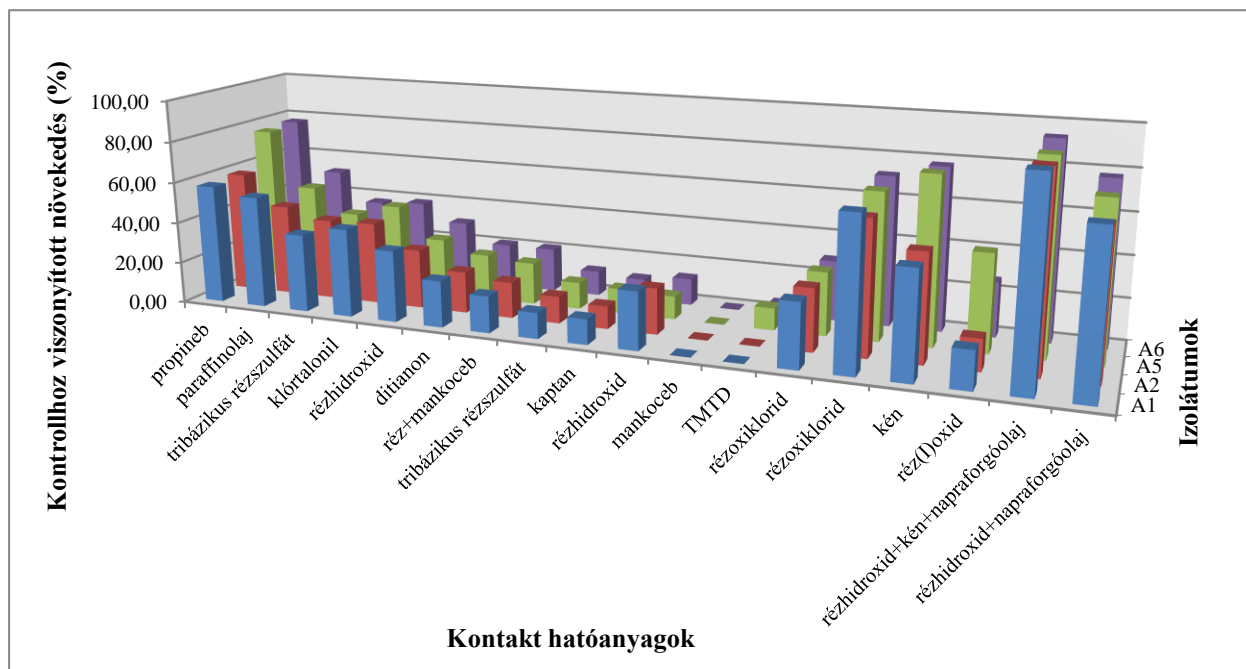
Magyarázat: A betűk abc-sorrendje a szórás mértéke szerinti növekedést jelzi. Ahol ugyanaz a betű szerepel ott nincs szignifikáns különbség az egyes izolátumok között. Az összes többi izolátumtól szignifikánsan eltérő értékeket a táblázatban piros színnel jelöltem.

4.8.2. Kontakt készítmények hatása a micélium növekedésére

A kontakt hatóanyagok közül a mankoceb mind gyakorlati dózisban, mind 10x-es hígításban gombaölő hatással rendelkezett. A réztartalmú hatóanyagokat vizsgálva, a tribázikus rézsulfát és a rézoxiklorid esetében figyeltünk meg teljes gátlást mind a 4 izolátum esetében gyakorlati dózisban. A kaptán, réz (I)-oxid, rézhidroxid és a TMTD hatóanyagok csak az A1 és A2 izolátumok esetében gátolták teljes mértékben a micélium növekedését gyakorlati dózisban. A klórtalonil, ditianon, rézhidroxid, rézoxiklorid, rézhidroxid+napraforgó olaj minden izolátumnál közel egyenlő mértékben csökkentette a micélium növekedését (**34. ábra**). Tízszeres hígításban a kontakt készítmények hatása jelentősen lecsökkent, de a mankoceb ebben az esetben is teljesen gátolta valamennyi izolátum növekedését (**35. ábra**).



34. ábra A kontakt hatóanyagok gátló hatása a *C. acutatum sensu lato* micéliumnövekedésére mérgezett agarlemezeken (gyakorlati dózisban)



35. ábra A kontakt hatóanyagok gátló hatása a *C. acutatum sensu lato* micéliumnövekedésére mérgezett agarlemezeken (10x-es hígításban)

A kontakt készítmények is egységes hatást mutattak a kórokozó izolátumaira (**13. táblázat**). Szignifikáns különbséget csak a Tiuram Granuflo (TMTD) és a Vegesol eReS (rézhidroxid+kén+napraforgóolaj) fungicidek esetében figyeltünk meg egy-egy izolátum esetében. Tízszerez hígításban egységesen nagyon lecsökkent a fungicidek hatékonysága (**35. ábra**), szignifikánsan eltérő értéket egyetlen izolátum esetében sem találtunk.

13. táblázat Az izolátumok csoportosítása a szignifikancia szintek alapján a kontakt hatású növényvédő szerek esetében

	A1	A2	A5	A6
Captan 50WP (kaptán)	a	a	b	b
Catane (paraffinolaj)	b	a	ab	b
Cupertine M (réz+mankocéb)	a	a	b	b
Montaflo (rézoxiklorid)	b	a	ab	ab
Necator 80WG (kén)	ab	b	a	ab
Nordox 75WG (réz (I)-oxid)	a	a	b	b
Tiuram Granuflo (TMTD)	a	a	b	c
Vegesol eReS (rézhidroxid+kén+napraforgóolaj)	c	a	b	b
Vegesol R (rézhidroxid+napraforgóolaj)	b	a	b	a
Vitra rézhidroxid (rézhidroxid)	a	a	b	b
Antracol 70WG 10x (propineb)	a	a	b	b
Necator 80WG 10x (kén)	a	a	b	b

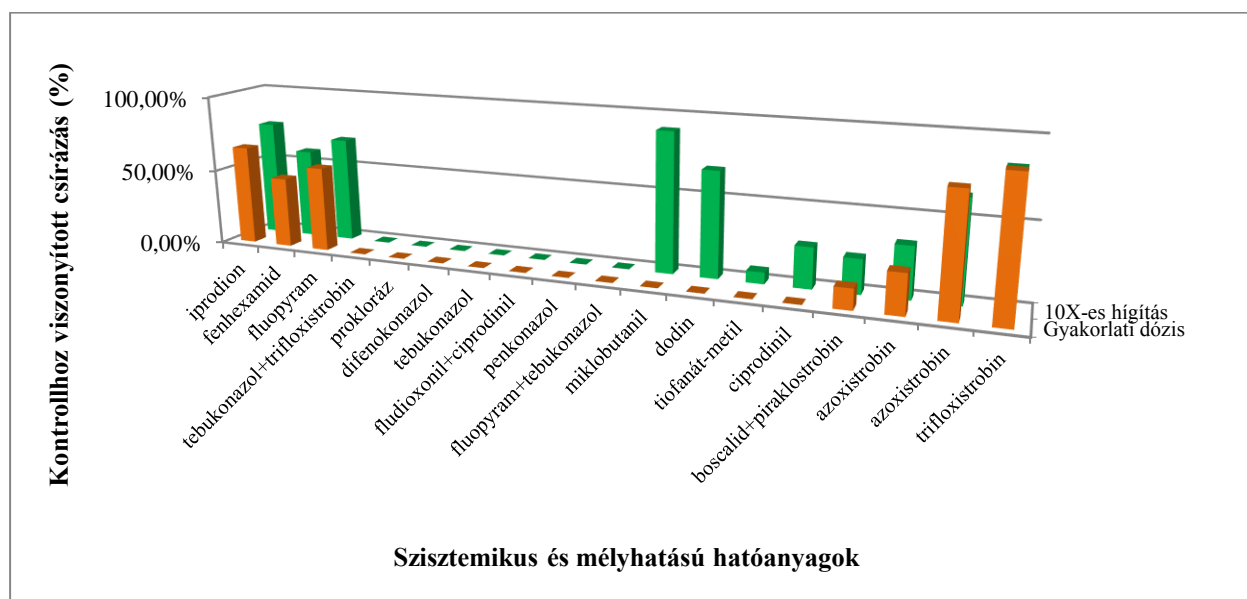
Tiuram granuflo 10x (TMTD)	a	a	b	ab
Vitra rézhidroxid 10x (rézhidroxid)	c	bc	a	ab

Magyarázat: A betűk abc-sorrendje a szórás mértéke szerinti növekedést jelzi. Ahol ugyanaz a betű szerepel ott nincs szignifikáns különbség az egyes izolátumok között. Az összes többi izolátumtól szignifikánsan eltérő értékeket a táblázatban piros színnel jelöltem.

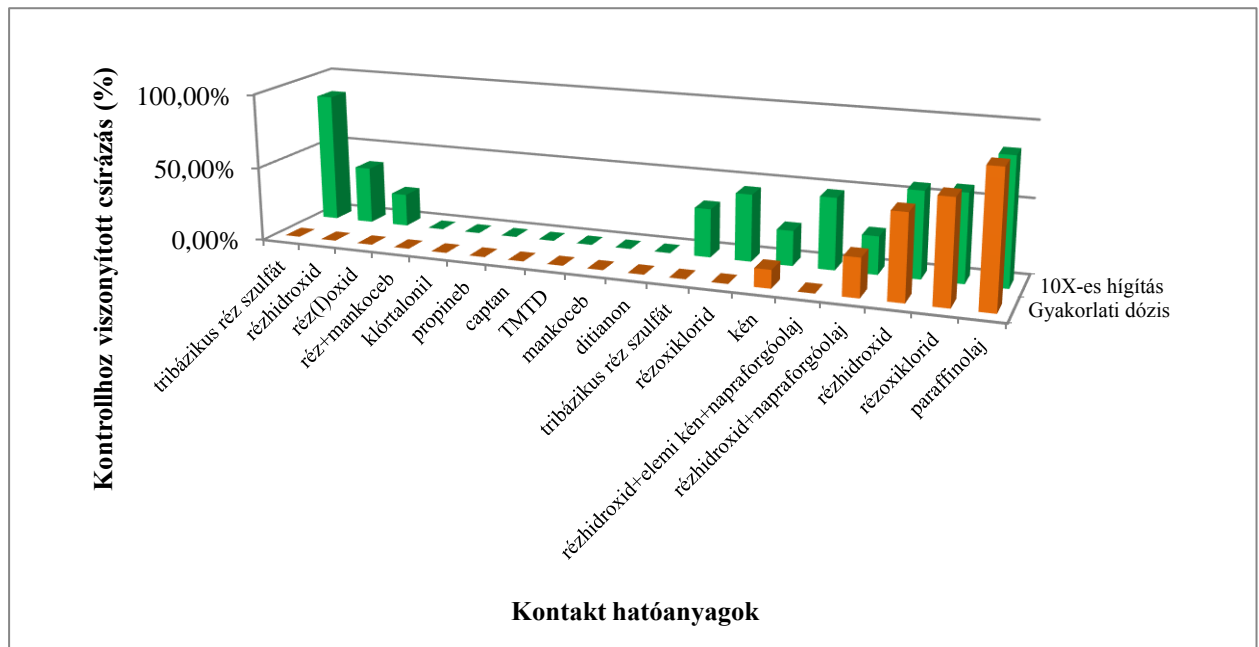
4.8.3. A növényvédő szerek hatékonyságának vizsgálata a konídiumok csírázására

Vizsgálva a 37 készítmény hatását a konídiumok csírázására, a szisztémikus és mélyhatású hatóanyagok közül mind gyakorlati dózisban, mind 10x-es hígításban teljes gátlást figyeltünk meg a trifloxystrobin+tebukonazol, fluopyram+tebukonazol, prokloráz, tebukonazol, difenokonazol, fludioxonil+ciprodinil, penkonazol esetében. A miklobutanil, dodin, tiofanát-metil, valamint a ciprodinil hatóanyagok csak gyakorlati dózisban mutattak fungicid hatást. A leggyengébb eredményeket az azoxistrobin, iprodion, fluopyram, trifloxistrobin és a fenhexamid hatóanyagok alkalmazása során értük el (36. ábra).

A kontakt hatóanyagok esetében 100%-os gombaölő hatással bírtak a réz+mankocéb, a klórtalonil, a propineb, a kaptán, a TMTD, a mankoceb, a ditianon hatóanyagok, valamint gyakorlati dózisban a tribázikus rézszulfát, a rézhidroxid, a réz(I)-oxid, a rézoxiklorid valamint a rézhidroxid+kén+napraforgóolaj hatóanyagok (37. ábra). A paraffinolaj szinte egyáltalán nem gátolta a csírázást a mérgezett agarlemezekon.



36. ábra A szisztémikus és mélyhatású hatóanyagok gátló hatása a *C. acutatum sensu lato* konídiumainak csírázására mérgezett agarlemezekon

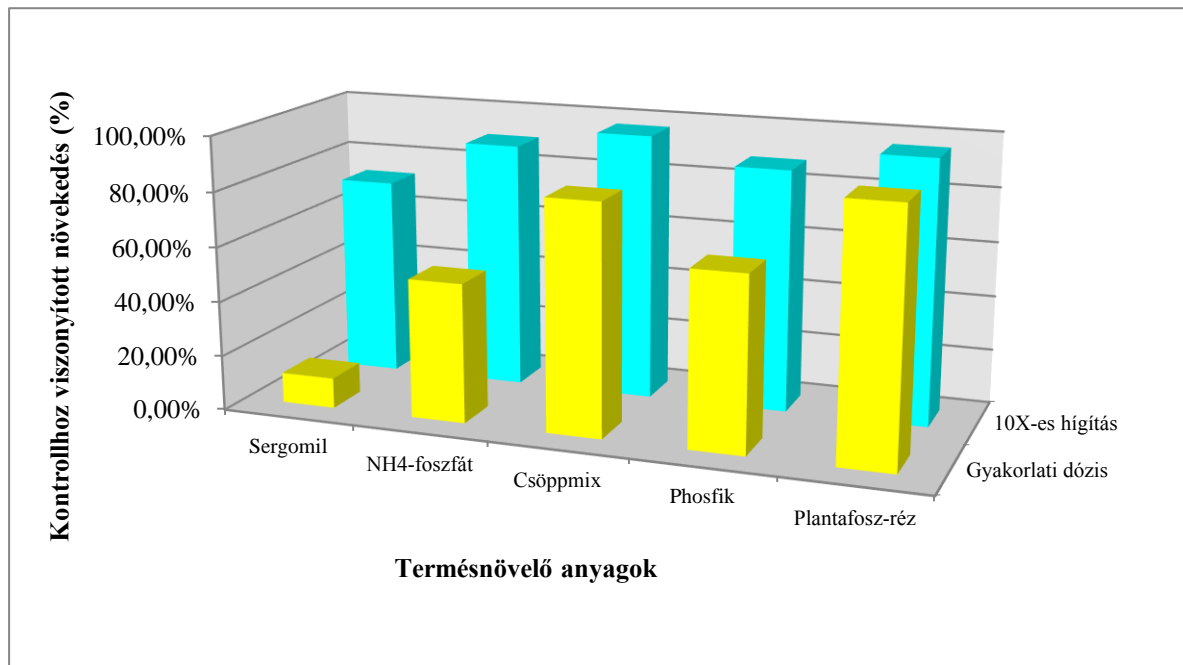


37. ábra A kontakt hatóanyagok gátló hatása a *C. acutatum sensu lato* konídiumainak csírázására mérgezett agarlemezeken

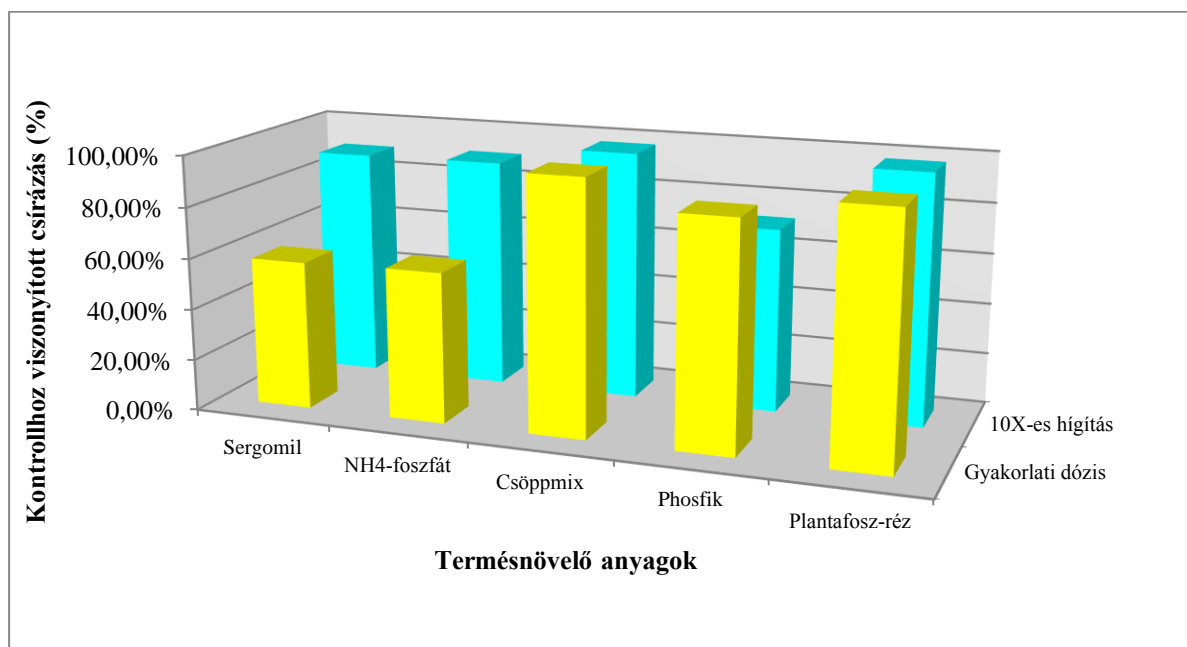
4.9. Termésmnövelő anyagok hatékonysága a meggyantraknózis kórokozójával szemben laboratóriumi körülmények között

A legtöbb termésmnövelő anyag csak gyenge fungisztikus hatást fejtett ki a kórokozóra. A Sergomil (réztartalmú lombtrágya) azonban meglepően jól, 89%-ban gátolta gyakorlati dózisban a meggyantraknózis kórokozójának micéliumnövekedését. Jobb hatást értünk el vele, mint néhány engedélyezett növényvédő szerrel (38. ábra).

A termésmnövelő anyagok a konídiumok csírázását gyengén gátolták. A micéliumnövekedésre kiemelt hatással rendelkező Sergomil itt csupán 45%-kal gátolta a konídiumok csírázását gyakorlati dózisban a kontrollhoz képest (39. ábra).



38. ábra A termésközelítő anyagok hatása a *C. acutatum sensu lato* micéliumának növekedésére



39. ábra A termésközelítő anyagok hatása a *C. acutatum sensu lato* konídiumainak csírázására

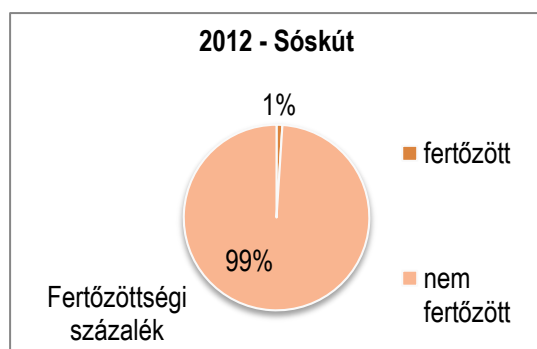
4.10. Növényvédelmi technológiák hatékonysága a meggyantraknózis kórokozójával szemben

4.10.1. Nagyparcellás kísérlet - Sóskút, 2012

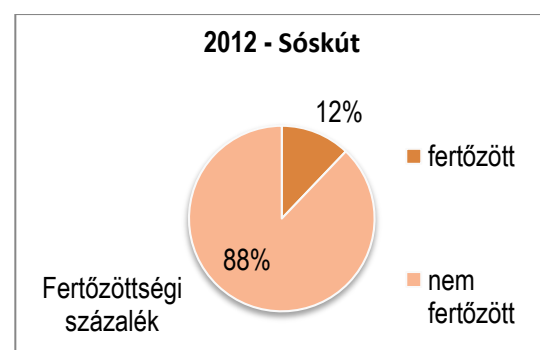
Általánosságban elmondható, hogy a 2012-es év száraz tavasza alapvetően nem kedvezett a betegség kialakulásának. 2012-ben a sóskúti kezelések esetében a Bayer II. kezelésnél az 'Érdi bőtermő' fajta esetében figyeltük meg a legalacsonyabb fertőzési gyakoriságot. A fertőzött termések aránya nem haladta meg az egy százalékot (**40. ábra**). A legmagasabb fertőzési gyakoriságot (12%) az 'Érdi bőtermő' ültetvényben mértük az üzemi technológia mellett (**41. ábra**). A betegség megjelenését góccokban tapasztaltuk. A sorokban néhány sűrűbb lombkoronájú fán, illetve azok közvetlen környezetében jelentek meg nagyobb számban az antraknózis tünetei a gyümölcsökön.

A Marascuillo-teszt nullhipotézise az volt, hogy a különböző típusú növényvédelmi technológiák, illetve egyéb körülmények nincsenek hatással a termés fertőzöttségre. A vizsgálatok során a 2012. évben, Sóskúton az 'Érdi bőtermő' fajtánál $\alpha=0,05$ szinten szignifikánsan különbözik a Bayer II-es és az üzemi technológiák hatása a fertőzöttség tekintetében. A számított érték az arányok különbsége: 0,11, míg a kritikus érték ennél kevéssel alacsonyabb: 0,10, ez alapján $\alpha=0,05$ -os szinten szignifikáns különbséget állapíthatunk meg.

A Marascuillo-tesztet elsősorban kettőnél több alapsokaság összehasonlítására használhatjuk. Mi a különböző körülményeket, kezeléskombinációkat (fajta, permetezőszer) külön kezelési szinteknek tekintettük, melyeknél eltérést találtunk a Marascuillo-teszt alapján. A vizsgálatok tovább pontosítása érdekében az 'Érdi bőtermő' fajtánál – amelyiknél a különbséget sejtettük – a Fisher-féle egzakt tesztet is alkalmaztuk. Ennek eredménye is azt mutatja, hogy a különböző típusú kezelések fertőzöttségi aránya szignifikánsan különbözik ($p=0,003$).



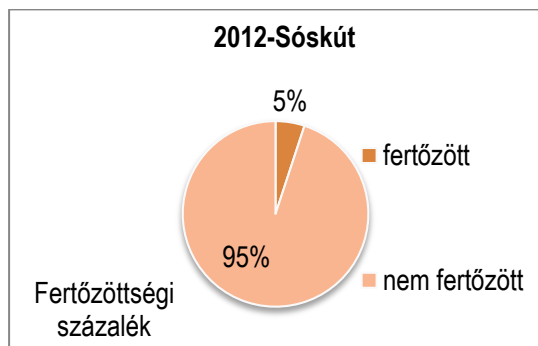
40. ábra Bayer II-es típusú kezelés hatása 'Érdi bőtermő' fajta esetében



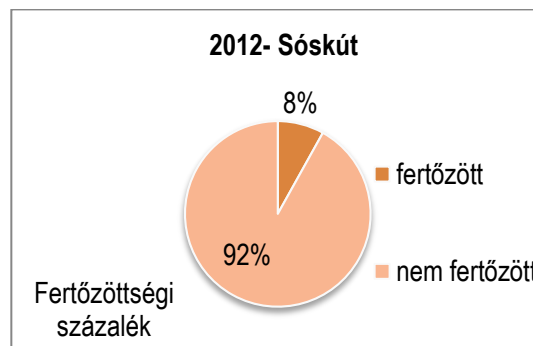
41. ábra Üzemi kezelés hatása 'Érdi bőtermő' fajta esetében

Sóskúton, 2012. évben az ‘Újfehértói fürtös’ fajta esetében szintén külön vizsgáltuk a Bayer II-es és az üzemi technológia hatékonyságát. A Bayer II-es kezelés típusnál a gyümölcsök 5%-a, míg az üzemi kezelésnél a gyümölcsök 8%-a fertőződött (**42. és 43. ábra**).

A fertőzöttség mértéke csak nagyon kis mértékben különbözött a kísérleti parcellákon. A Marascuillo-teszt szerint nem volt különbség a kétféle kezelés esetén a fertőzött termékek arányai között és a Fisher-féle egzakt próba sem mutatott eltérést ($p=0,568$).

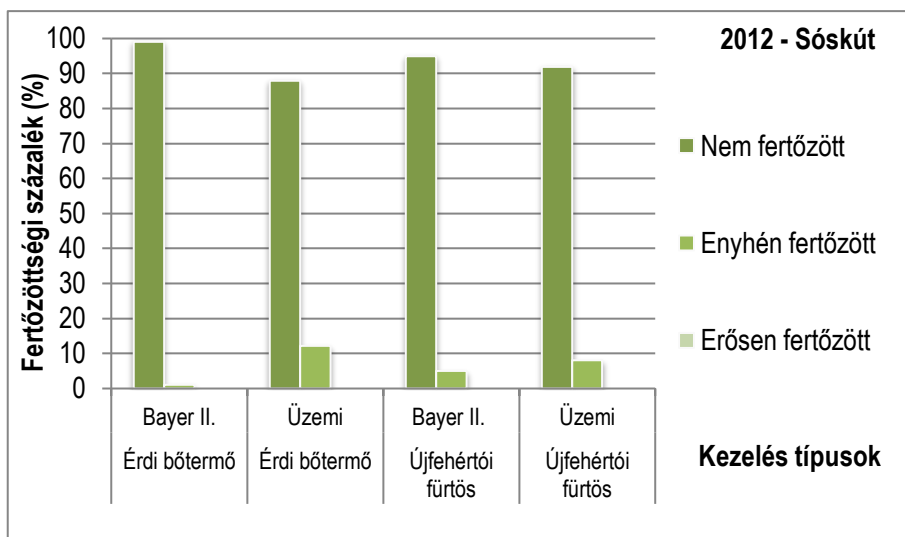


42. ábra Bayer II-es típusú kezelés hatása ‘Újfehértói fürtös’ fajta esetében



43. ábra Üzemi kezelés hatása ‘Újfehértói fürtös’ fajta esetében

Ha nem csupán a fertőzés megjelenését, hanem súlyosságát is figyelembe szeretnénk venni, akkor a fertőzöttség mértékét három kategóriába sorolva homogenitás vizsgálatra vonatkozó χ^2 -négyzet próbát végezhetünk az eloszlások összehasonlítására. Ebben a – kategóriákat képező – megközelítésben a 2012-es sóskúti adatokat a **44. ábra** mutatja be.



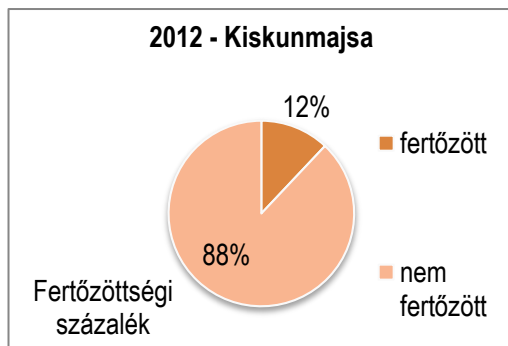
44. ábra ‘Újfehértói fürtös’ és ‘Érdi bőtermő’ fajták fertőzöttsége 2012-ben Sósokúton a vizsgált technológiák mellett

A homogenitás vizsgálatra vonatkozó χ^2 -négyzet próba szerint az ‘Újfehértói fürtös’ és ‘Érdi bőtermő’ fajtáknál használt készítmények a Bayer II-es és üzemi kezelések esetében (a négy kategóriát együttesen vizsgálva) a technológiák szignifikáns különbséget mutattak a fertőzöttségi

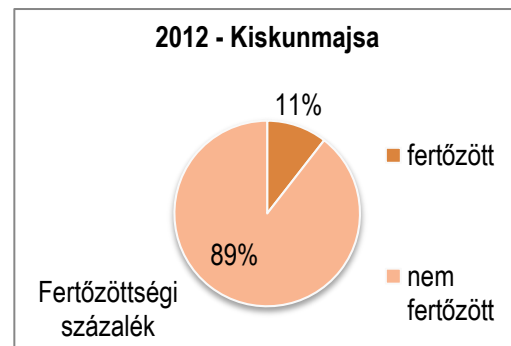
szint eloszlásában. Tovább vizsgálva az ‘Újfehértói fürtös’ fajtán, a χ^2 -négyzet próba szerint a Bayer II-es és üzemi technológia között nincs szignifikáns különbség. Ezzel ellentétben ‘Érdi bőtermő’ fajtán a χ^2 -négyzet próba szerint a fent említett kezelés típusok fertőzöttségi arányainak eloszlása között szignifikáns különbség van ($p=0,001$). Ez összhangban van annak a korábbi vizsgálatnak az eredményeivel, amikor csak a fertőzöttség tényét vizsgáltuk. Mindkét esetben ugyanott találtunk eltérést.

4.10.2. Kisparcellás kísérlet - Kiskunmajsa, 2012

Kiskunmajsán, 2012. évben a Bayer II-es technológiát hasonlítottuk össze az üzemi növényvédelmi technológiával ‘Kántorjánosi’ fajtán. A fertőzöttség mértéke a mintában az előbbi kezelésnél 12%-os, míg az utóbbinál 11%-os volt (**45. és 46. ábra**). A Fisher-féle egzakt teszt alapján a két technológia között nem mutatható ki szignifikáns különbség ($p=0,847$).

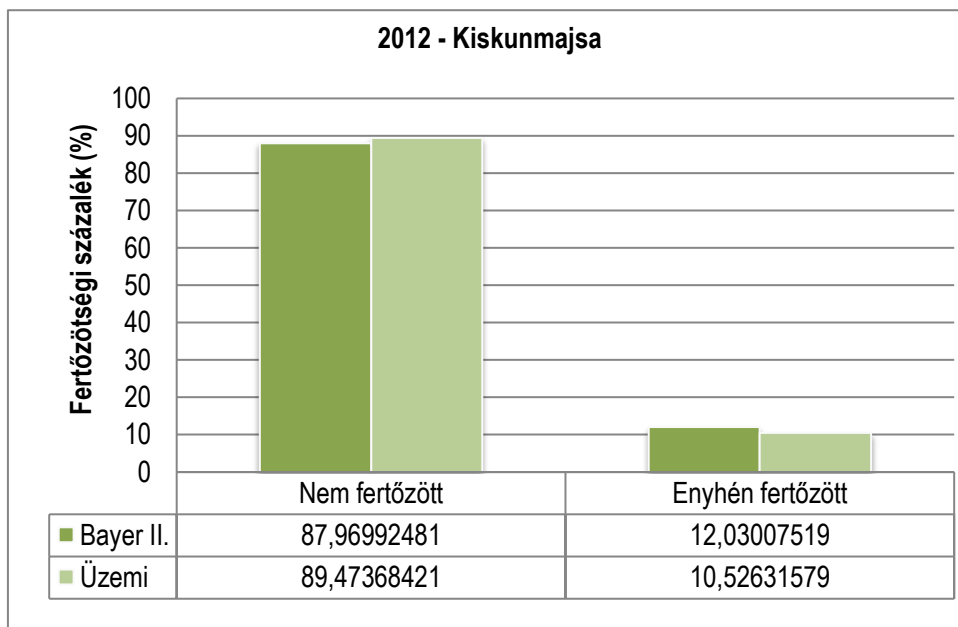


45. ábra Bayer II-es típusú kezelés hatása ‘Kántorjánosi’ fajta esetében



46. ábra Üzemi kezelés hatása ‘Kántorjánosi’ fajta esetében

A kísérlet kiértékelése során kategóriákkal dolgozva a homogenitásra vonatkozó χ^2 -négyzet próba szerint a Bayer II-es és az üzemi fungicides kezelések mellett a fertőzöttségi arányok eloszlása között nincs szignifikáns különbség. A két csoportban egyaránt a fertőzöttségi szint csak az enyhén fertőzött kategóriát érte el, amit a **47. ábra** mutat be.



47. ábra A ‘Kántorjánosi’ fajta fertőzöttsége 2012-ben Kiskunmajsán a vizsgált technológiák mellett

4.10.3. Nagyparcellás kísérlet - Sóskút, 2013

Sóskúton, a 2013-as évben ismét az ‘Érdi bőtermő’ és ‘Újfehértói fürtös’ fajtákon végezték el a növényvédelmi kezeléseket. A Bayer II. technológia hatékonyságát hasonlítottuk össze az üzemi technológiával. A kísérlet kiértékelése során nem találtunk egyetlen fertőzött gyümölcsöt sem egyik parcellán sem (azaz 0%-os megbetegedés volt), így statisztikai próbát sem tudtunk végezni.

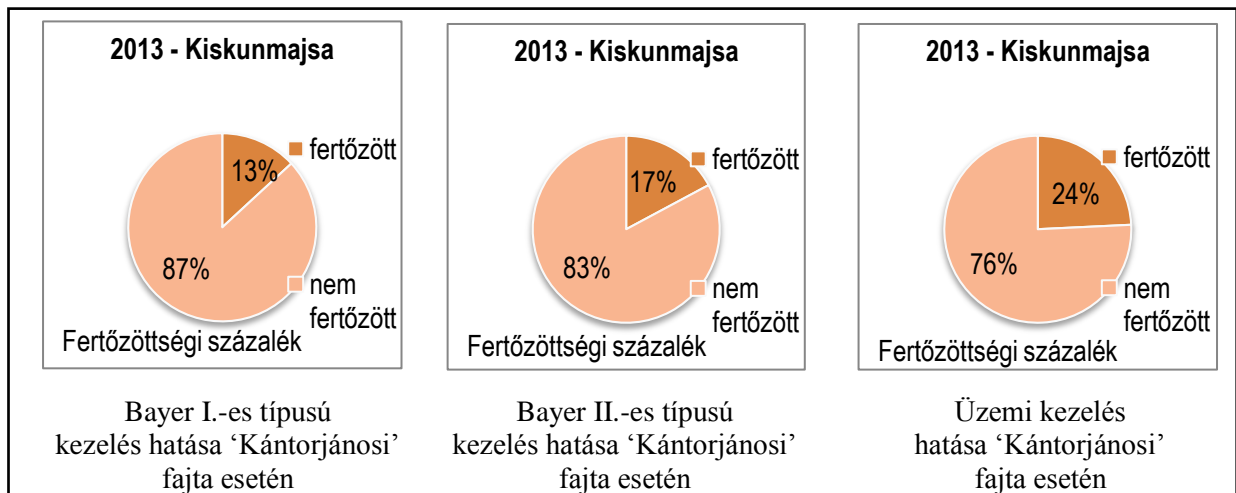
Bár a 2013-as év csapadékosabb tavasza és az érés előtti többszöri kisebb esőzések jóval kedvezőbb feltételeket biztosítottak volna a fertőzéshez a kórokozó számára, mint a 2012-es évben, mégsem jelent meg a betegség. Az előző évben a hatékony növényvédelmi technológia mellett az aszályos időjárás is nagymértékben csökkentette az inokulum mennyiségét, ezért 2013-ban a növényvédelmi kezeléseket teljesen megakadályozták a kórokozó fertőzését, még a csapadékos időjárás ellenére is a termésérés idején.

4.10.4. Kisparcellás kísérlet - Kiskunmajsza, 2013

2013. évben Kiskunmajsán a ‘Kántorjánosi’ fajta esetében a kezelési típusok száma kibővült az előző évihez képest. A szabadföldi szemle alapján az üzemi és a Sumi Agro III-as technológiák esetében volt a legmagasabb a fertőzött termékek aránya a megfigyelt fákön: 24%, illetve 21%.

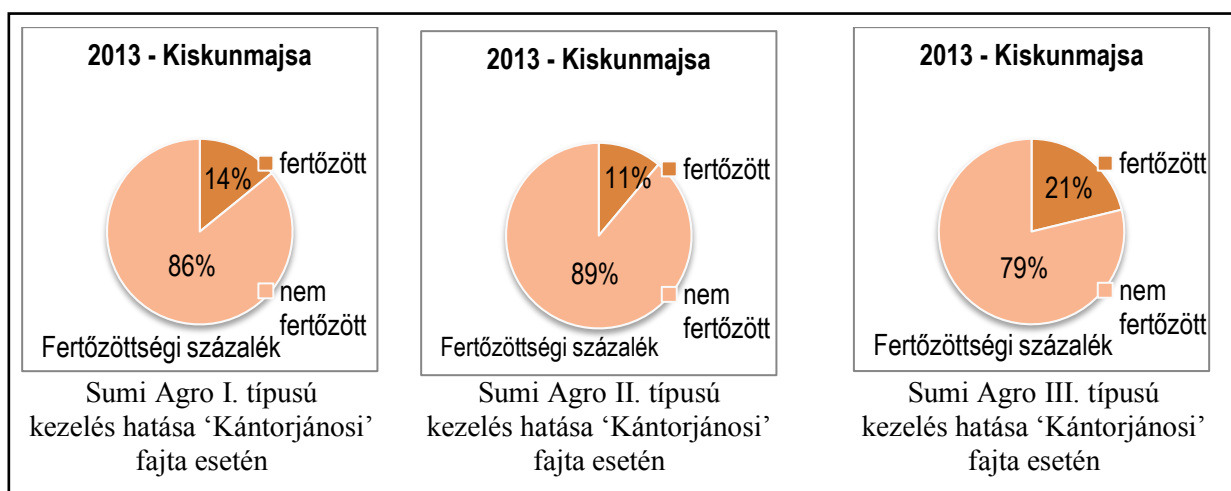
A Marascuillo-teszt elvégzésénél a különböző technológiák üzemi kezeléssel való összehasonlítására koncentrálnak.

Bár az üzemi technológiával kezelt területen figyeltük meg a legtöbb fertőzött gyümölcsöt (24%) a Marascuillo-teszt szerint a Bayer I-es és II-es, valamint az üzemi kezelések hatékonysága között nincs szignifikáns különbség. A fertőzöttségi arány a Bayer I-es technológia esetén 13%-os, a Bayer II-es technológia esetén 17%-os volt (**48. ábra**).



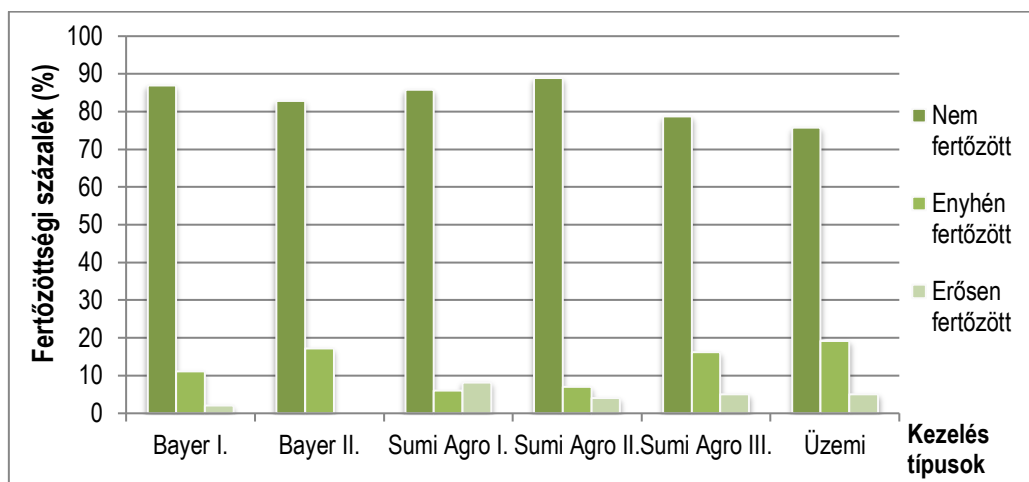
48. ábra Kiskunmajsán a Bayer számára végzett kezelések összehasonlítása és az üzemi kontroll eredményei, 2013 évben, 'Kántorjánosi' fajta esetén

A Sumi Agro I-es, Sumi Agro II-es és Sumi Agro III-as technológiák hatékonyságát is teszteltük ebben az évben (**49. ábra**). A fertőzöttség megfigyelt mértéke a fent említett sorrend szerint a következő volt: 14%, 11% és 21%. Ezeket az üzemi technológiához (**48. ábra**) és egymáshoz hasonlítottuk. A Marascuillo-teszt 0,05-os szignifikancia szinten nem mutatott különbséget ebben az esetben sem a különböző technológiák melletti fertőzöttségi arányok között.



49. ábra Kiskunmajsán a Sumi Agro számára végzett kezelések összehasonlítása, 2013 évben, 'Kántorjánosi' fajta esetén

A fertőzöttség súlyosságát is figyelembe vevő kategóriákat vizsgálva a kezelési típusok és a mellettük jelentkező fertőzöttségi szintek az **50. ábrán** láthatók.



50. ábra A 'Kántorjánosi' fajta fertőzöttsége 2013-ban Kiskunmajsán a vizsgált technológiák mellett

Az összes kezelési csoport fertőzöttségét homogenitás vizsgálattal hasonlítottuk össze. A homogenitás vizsgálatra vonatkozó χ^2 -négyzet próba szerint a különböző kezelések melletti fertőzöttségek eloszlásai között szignifikáns különbség van. Ezért az egyes növényvédelmi technológiákat tovább vizsgáltuk, úgy, hogy az üzemi növényvédelemhez hasonlítottuk a többi típusú kezelést. A χ^2 -négyzet próba szerint a fertőzöttség eloszlása az üzemi kezelés esetén nem különbözik szignifikánsan sem a Bayer I-es ($p=0,12$), sem a Bayer II-es ($p=0,06$), sem a Sumi Agro III-as ($p=0,85$) technológiák esetében.

Azonban ahogy az **50. ábrán** is látható a Sumi Agro I-es és II-es kezeléseknél lényegesen alacsonyabb a fertőzöttség mértéke, mint az üzemi kezelésnél. Az eltérést statisztikailag is alátámasztó χ^2 -négyzet próba alapján a Sumi Agro I-es kezelés és üzemi technológia, valamint Sumi Agro II-es kezelés és az üzemi technológia fertőzöttségének eloszlásai között szignifikáns különbségek vannak ($p=0,01$ és $p=0,03$).

4.10.5. A növényvédelmi technológiák hatékonysága a hűtőtárolás során /Kiskunmajsa, 2013/

2013-ban a hűtőszekrényben tárolt gyümölcsökön, az inkubációs idő alatt nem súlyosbodtak számottevően a tünetek. Megvizsgálva a 100-100 gyümölcsöt csak 1-1 termésen jelentek meg új tünetek a következő kezelési típusoknál: Sumi Agro I., Sumi Agro III., üzemi technológia. Nem jelent meg tünet egy termésen sem a Sumi Agro II-es, Bayer I-es és Bayer II-es kezelési típusoknál. Ezek a kismértékű eltérések nem tették lehetővé, hogy statisztikai próbát végezzünk a különböző csoportokon.

4.11. Új tudományos eredmények

- Hazánkban elsőként azonosítottuk a *Colletotrichum acutatum* fajkomplexbbe tartozó *C. fioriniae* fajt áfonya és füge, valamint a *C. godetiae* fajt szőlő termésekről.
- Európában a *C. acutatum sensu lato* új gazdanövényeként írtuk le a húsos somot és a világon elsőként határoztuk meg a fajkomplexben belüli hovatarozását (*C. godetiae*).
- Hazánkban elsőként határoztuk meg több gyümölcsfaj antraknózisát kiváltó kórokozó *C. acutatum* fajkomplexben belüli hovatarozását (meggy, cseresznye, alma, húsos som, szőlő – *C. godetiae*, meggy, szamóca – *C. nymphaeae*, füge, áfonya, húsos som – *C. fioriniae*) valamint molekuláris módszerrel azonosítottuk az 1950-es években meggyantraknózist kiváltó kórokozót.
- A világon elsőként közöltünk szekvencia adatokat a *C. acutatum* fajkomplex tagjának kalmodulin génjéből, valamint hazánkban elsőként közöltünk szekvencia adatokat a *C. acutatum* fajkomplex tagjának hiszton 3 génjéből.
- A világon elsőként bizonyítottuk meggy gazdanövényen a kórokozó áttelelését a rügypikkelyeken, valamint elsőként mutattuk ki a kórokozó látens jelenlétét a meggylevelek belső szöveteiben a vegetációs időszakban.

Bár elsősorban nem tudományos eredmény, de a gyakorlati növényvédelem számára mégis jelentős, hogy kidolgoztunk a kórokozó elleni hatékony, hazánkban alkalmazható növényvédelmi technológiát.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Tünetek és gazdanövénykör

A meggy (*Prunus cerasus*) és cseresznye (*Prunus avium*) gyümölcssein megjelenő tünetek megegyeztek **Lehoczky (1957)** által leírtakkal. A kezdetben barnuló, besüppedő foltok idővel megnagyobbodtak. A rothadó foltokban kialakuló acervuluszokban tömegesen képződtek nyálkás, ragacsos massa formájában a konídiumok. Az első tünetek színesedés után jelentek meg. **Børve és mtsai. (2010)** szerint a meggy fertőződése az érés kezdetétől lehetséges. Már **Lehoczky (1957)** is említi, hogy a meggyantraknózis kórokozója sérülés vagy sebzés nélkül is képes fertőzni a terméseket. Ezt mi is bizonyítottuk, hiszen a sikeres patogenitási tesztek során valamennyi esetben az ép bőrszövetre helyeztük a kórokozó micéliumát.

Szamócán (*Fragaria x ananassa*) a fent említettekkel megegyező tünetek alakultak ki, ahogy azt **Leandro és mtsai. (2001)** is leírják. Csepregről származó áfonya (*Vaccinium myrtillus*) gyümölcsökön barna, enyhén vizenyős, besüppedő foltokat figyeltünk meg. **Talgø és mtsai. (2007)** szerint azonban az antranózisos foltok szárazak. A különbség abból adódhat, hogy a szerzők Norvégiában szabadföldön – az ültetvényben – jellemezték a tüneteket, mi pedig kereskedelmi forgalomban vásároltuk a fertőzött gyümölcsöket a Fény utcai piacon (Budapest II. ker.), melyeket előre kikészítve, műanyag dobozokban tároltak.

A fügén (*Ficus carica*) kialakuló antraknózisos tünetekre Gödöllőn Dr. Salamon Pál lett figyelmes. A fügéken barna besüppedő, száraz foltok alakultak ki. **El-Gholl és Alfieri (1994)**, valamint **Choi és mtsai. (2013)** barna, szabálytalan alakú léziókat figyelt meg füge terméseken. A tüneteket a *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc kórokozónak tulajdonították, a gödöllői tüneteket kiváltó kórokozó azonban egyértelműen a *C. acutatum* fajkomplex tagja (*C. fioriniae*). Az egyetlen említés erről a kórokozó-gazdanövény kapcsolatáról Új-Zélandról, **Guerber és mtsai. (2003)**-tól származik.

Húsos som (*Cornus mas*) termésein a *C. acutatum sensu lato* okozta antraknózist figyeltünk meg Bársonyoson és Kecskeméten. **Smith (1993)** hasonló tüneteket írt le virágos som (*Cornus florida*) termésein Connecticutban. **Arzanlou és Torbati (2013)** Iránban húsos som terméseiről azonosították a *C. acutatum* kórokozót. Hozzánk hasonlóan a szerzők az érőfélben lévő gyümölcsökön, gyakran a kocsány felőli részen kialakuló fénytelen, barna, szabálytalan alakú foltokat figyeltek meg. Más – somon előforduló – hasonló tüneteket okozó vagy hasonló morfológiai bélyegekkal rendelkező kórokozó jelenlétét, mint a *Septoria cornicola* (**Neely és Nolte, 1989**) vagy a *Discula destructiva* (**Redlin, 1991; Tantardini és mtsai., 2004**), kizártuk a laboratóriumi vizsgálatok során. **Chellemi és mtsai. (1993)** később sikeresen izolálták az elhalt

ágakból és levélfoltokból is a kórokozót, mi azonban nem találtunk a kórokozóval összefüggésbe hozható tüneteket a többi növényi részen. A húsos somot a kórokozó új gazdanövényének tekinthetjük Magyarországon és Európában, hiszen az átvizsgált irodalmi adatok között csupán egyetlen esetben, Irán területén figyelték meg a kórokozót ezen a gazdanövényen (**Arzanlou és Torbati, 2013**). A szerzők nem határozták meg a kórokozó fajkomplexen belüli hovatartozását, mi azonban a bársonyosi húsos somról izolált kórokozót *C. godetiae*-ként, a kecskemétről származó izolátumot pedig *C. fioriniae*-ként határoztuk meg. Bár a húsos som gazdasági jelentősége igen csekély, a *C. acutatum sensu lato* okozta termésrothadás jelentősége mégis számottevő lehet. A *Cornus mas* őshonos növény Európában. Az erdőkben, ültetvények szegélyénél gyakran előfordul, ezáltal akár fertőzési forrást is jelenthet több természet, gyümölcsstermő növényünk számára.

A kórokozó nem csak a gyümölcsösökben okozhat tüneteket, hanem tárolás során is jelentős kártétel léphet fel. A tárolt almákon (*Malus domestica*) kialakult tünetek megegyeztek **Mari és mtsai. (2012)** által jellemzettekkel.

A meggyről származó izolátumok a *C. acutatum* fajkomplexen belül kettő kivételével (A14, A15) a *C. godetiae* fajhoz tartoznak. Ebbe a csoportba sorolható még a molekuláris vizsgálat eredményei alapján a cseresznyéről (A9), a bársonyosi húsos somról (A16), az almáról (A19), egy szamócáról (A43) és a szőlőről (A49) származó izolátum is. **Damm és mtsai. (2012)** a fajkomplex jellemzése során *Clarkia* (syn. *Godetia*) *hybrida*, *Olea europea*, *Fragaria x ananassa*, *Sambucus nigra*, *Solanum betaceum* fajokról származó izolátumok alapján jellemzik a kórokozót. A szerzők szerint a *C. godetiae* megbetegedést okozhat még *Fragaria*, *Malus* és *Prunus* fajokon főként Európában és a Közel-Keleten, melyeknek gyümölcsseit, leveleit vagy fás részeit fertőzi.

A *C. nymphaeae* fajhoz tartozik egy szamócáról (A48), két meggyről (A14, A15) és egy másik, vélhetően meggy vagy szamóca gazdanövényről származó izolátum (A41). Utóbbit a Sumi Agro bocsájtotta rendelkezésünkre, de pontosabb adatokat nem kaptunk az izolátum származását illetően. **Damm és mtsai. (2012)** a fajkomplex jellemzése során, a faj referencia izolátumai között, olyan vonalakat tüntetnek fel, melyek *Nymphaea alba*, *Anemone coronaria*, *Mahonia aquifolium* és *Fragaria x ananassa* fajokról származnak.

C. fioriniae fajként azonosítottuk az áfonyáról (A17), fűgéről (A18) és a kecskeméti húsos somról (A38) származó izolátumokat. **MacKenzie és mtsai. (2009)** és **Polashock és mtsai. (2009)** szintén áfonya fajok terméséről izolálták a kórokozót, mely rothadást idézett elő. **Damm és mtsai. (2012)** a faj típus izolátumai között *Vaccinium* sp., *Rubus* sp., *Persea americana*, *Mangifera indica* és *Vitis vinifera* gazdanövényről származó vonalakat tüntetnek fel. **MacKenzie és mtsai. (2009)** áfonyáról származó *C. fioriniae* izolátumok patogenitásának vizsgálata során azt tapasztalták, hogy szamóca gyümölcsökön a kórokozó rothadást okoz, bár a léziók mérete jelentősen elmarad

a *C. nymphaeae* által okozottaktól. **Damm és mtsai. (2012)** összegzése szerint a szamócát fertőző fajok közül a *C. fioriniae* jelentősége és gyakorisága elmarad a *C. nymphaeae*-étől.

Konídiumok morfológiája és tenyészbélyegek

A *Colletotrichum acutatum* fajkomplexbe tartozó kórokozók acervulusokban képződő konídiumai minden esetben egysejtűek, hialinok és végük általában kihegyesedő. Ez utóbbi volt az egyik jellegzetes tulajdonság, amely alapján a *C. acutatum* fajt különválasztották a *C. gloeosporioides*-től (**Simmonds, 1965**). Ám a konídiumok alapján történő azonosítás korántsem ilyen egyszerű, hiszen már **Van der Aa és mtsai. (1990)** is számos átmeneti konídium formát figyeltek meg a *C. acutatum sensu lato* és *C. gloeosporioides sensu lato* között.

Az antraknózisos tüneteket mutató meggyekről, cseresznyéről és szőlőről származó konídiumok hosszúkásak, szivar alakúak, némelyik enyhén befűződött (babapiskóta formájú), végük általában lekerekített vagy az egyik lekerekített a másik kihegyesedő. Ezek az izolátumok egységesen a *Colletotrichum godetiae* fajhoz tartoznak. **Damm és mtsai. (2012)** a *C. godetiae* faj jellemzése során megállapították, hogy a konídiumok hialinok, sima falúak, egysejtűek, alakjuk a hengerestől az orsó formájúig változik, végük gyakran kihegyesedő. Ők is említést tesznek a bunkó formájú egyik végükön kihegyesedő, jellegzetes konídiumokról. Vizsgálataink során azonban megfigyeltünk kissé eltérő morfológiájú konídiumokat is ezen a fajon belül. Az A19-es almáról származó izolátum konídiumainak végei sokkal inkább kihegyesedőek, a bársonyosi húsos somról származó izolátum (A16) konídiumai pedig zömökebbek, kevésbé megnyúltak és jellemzően ovális alakúak.

A *C. nymphaeae* fajhoz sorolt izolátumok esetében rövidebb, kevésbé megnyúlt, jellemzően ovális konídiumokat figyeltünk meg. **Damm és mtsai. (2012)** a faj jellemzése során hialin, sima fallal rendelkező, egyenes, hengeres vagy bunkó alakú konídiumokról beszélnek, bár a jellemzés végén említik, hogy a legtöbb izolátum konídiumai eltérést mutatnak alakjuk tekintetében a típusfajhoz képest.

A *C. fioriniae* fajhoz tartozó izolátumaink között is megfigyelhető eltérés a konídiumok morfológiáját illetően. Az áfonyáról és fügéről származó (A17 és A18) izolátumok konídiumai hosszúkás, megnyúlt alakkal rendelkeztek, a konídiumok végei általában kihegyesedőek voltak. **Damm és mtsai. (2012)** is hasonlóan jellemezték a faj konídiumait. A kecskeméti húsos somról izolált kórokozó (A38) konídiumai azonban rövidebbek, kevésbé megnyúltak és inkább ovális alakúak voltak.

Bár a konídiumok morfológiájának vizsgálatakor elkülönítettünk hasonló csoportokat, de ezeket összevetve a molekuláris azonosítás eredményével megállapítható, hogy a hasonló

morfológiai tulajdonságokkal rendelkező izolátumok nem feltétlenül tartoznak egy fajhoz a *C. acutatum* fajkomplexen belül.

C. acutatum (*sensu lato*) esetén **Bernstein és mtsai. (1995)** munkájuk során szürke és rózsaszínű, **McKay és mtsai. (2009)** pedig rózsaszín, narancs, krémszínű és szürke tenyészeteket írtak le. Ezekhez hasonlóan mi is igen változatos tenyészbélyegeket figyeltünk meg. **Talgo és mtsai. (2007)** megfigyelése alapján gyakran egyazon gazdanövény fajról izolált tenyészetek színe különböző árnyalatokat vehet fel. Ezt tapasztaltunk mi is meggyről (szürke és narancssárga alapszínű tenyészetek) és somról (púderszínű és lilásrózsaszín tenyészetek) származó izolátumok esetében. A *C. godetiae*, *C. nymphaeae* és *C. fioriniae* fajokhoz sorolt izolátumok tenyészbélyegeit nem tudjuk összevetni a fajkomplexet jellemző szerzők adataival, mert **Damm és mtsai. (2012)** SNA (synthetic nutrient-poor agar, szintetikus tápanyagszegény agar táptalaj) és OA (oat agar, zabliszt agar) táptalajon jellemezték a tenyészetek megjelenését.

A magyar izolátumok tenyészeteit vizsgálva elkülönítettünk hasonló fenotípusú csoportokat, de ezeket összevetve a molekuláris azonosítás eredményével megállapítható, hogy a hasonló tenyészbélyegekkal rendelkező izolátumok nem feltétlenül tartoznak egy fajhoz a *C. acutatum* fajkomplexen belül. A fajkomplexet jellemző taxonómiai cikk szerint sem a különböző növényeken megfigyelt tünetek, sem a morfológiai- és tenyészbélyegek alapján nem lehet pontosan meghatározni, hogy a *C. acutatum* fajkomplexen belül melyik faj lehet felelős a fertőzésért (**Damm és mtsai., 2012**). A *C. fioriniae* faj izolátumai különültek el leginkább a többi izolátumtól jellegzetes rózsaszínes-püspöklila alapszínükkel és a tenyészetben megjelenő intenzív konídiumképzéssel.

Molekuláris azonosítás

Az ITS régió, a hiszton 3 gén és a kalmodulin gén szekvenciái alapján izolátumaink kettő kivételével a *Colletotrichum acutatum* fajkomplex tagjai. A paradicsomról izolált kórokozót (A37) *C. coccodes*-ként, míg a banánról származó A39-es izolátumot *C. musae*-ként azonosítottuk.

Az ITS régióban változékonyságot figyeltünk meg az izolátumok között. **Sreenivasaprasad és mtsai. (1996)** ismerték fel először, hogy a *C. acutatum sensu lato* szokatlanul változékonnyal ebben a régióban, hiszen 5,8%-os eltérést találtak az ITS-1 szekvenciák között. Ez nagyon magas érték, főleg összevetve azzal, hogy egyes rokonságban álló, de mégis eltérő fajok között ez az érték gyakran 2–4% között mozog. Csupán az ITS régió vizsgálata alapján is megközelítőleg besorolhatók az egyes izolátumok a *C. acutatum* fajkomplexbe. Bár egyes irodalmi adatok szerint csupán ennek a régióknak a vizsgálata nem elegendő a fajmeghatározáshoz (**Crouch és mtsai., 2009**). **Damm és mtsai. (2012)** is gyakran feltételes módon fogalmaznak a

taxonómiai hovatartozást illetően tanulmányukban, ha egy izolátum kapcsán csak az ITS régió szekvenciája áll rendelkezésre. Eredményeink szerint csupán az ITS régió szekvenciája alapján az izolátumok többsége ugyanahhoz a fajhoz sorolható, mint az ITS régió és a *histon 3* gén szekvenciáját együttesen figyelembe vevő törzsfán (**19. és 21. ábra**).

A magyar izolátumok (az A37 és A39 izolátumok kivételével) három fajhoz tartoznak a fajkomplexen belül, melyek **Damm és mtsai. (2012)** által megrajzolt törzsfán egymáshoz közeli kládokban található. A *C. nymphaeae* a 2. kládban, a *C. fioriniae* a 3. kládban, míg a *C. godetiae* az 5. kládban helyezkedik el. A *C. godetiae* fajhoz tartoznak a következő izolátumok: A1, A2, A3, A5, A6, A7, A9, A13, A16, A19, A22, A23, A30, A31, A42, A43. Az A17, A18 és A38-as izolátumok a *C. fioriniae* faj izolátumaival állnak a legközelebbi rokonságban. Ezek az izolátumok a tenyészbélyegeik alapján is jól elkülönültek a többi izolátumtól, mert lilás színanyagot termeltek a táptalajon. Az A14, A15 és A48-as izolátumok a legnagyobb hasonlóságot a *C. nymphaeae* fajjal mutatták.

Az 1956-ból származó A0 jelzésű izolátum az ITS régió vizsgálata alapján a *C. nymphaeae* és *C. chrysanthemi* fajokkal mutat közeli rokonságot (**19. ábra**). Azonban a *histon 3* és *kalmodulin* gén szekvenciái alapján – a többi meggyről származó izolátumhoz hasonlóan – az 5. klád tagjaival áll legközelebbi rokonságban (**20. ábra**). A *C. godetiae* mellett ide tartozik még a *C. johnstonii*, *C. pyricola*, *C. salicis*, *C. phormii*, *C. rhombiforme*, *C. acerbum*, *C. australe*, *C. kinghornii* (**Damm és mtsai., 2012**), melyek az általunk megrajzolt törzsfán is egyértelműen elkülönülnek a két régió szekvenciái alapján (**20. ábra**). Ezen a törzsfán azt is megfigyelhetjük, hogy az A0 izolátum akár az 5. klád ősi, kiinduló fajának tekinthető, amelyből a klád további tagjai később alakultak ki.

A kórokozó biológiája

A világon elsőként bizonyítottuk meggy gazdanövény esetén, hogy a gyümölcsmúmiákon és terméskocsányokon túl a rügpikkelyeken is áttelel a kórokozó. Cseresznye rügpikkelyein **Børve és Stensvand (2006a)** és **Burak és Eris (2008)** bizonyították a gomba áttelelését.

A tünetmentes levelek vizsgálata során a világon elsőként bizonyítottuk, hogy a kórokozó jelen van a meggy leveleinek belső szöveteiben. Külföldi kutatók is igazolták már a látens levélfertőzést citrom (**Zulfiqar és mtsai., 1996**), szamóca (**Leandro és mtsai., 2001; Mertely és Legard, 2004**), szeder (**Yoshida és Shirata, 1999**), alma (**Crusius és mtsai., 2002**) és cseresznye (**Børve és mtsai., 2010**) esetében. A szerzők azt is megfigyelték, hogy a kórokozó tüneteket nem okozva szaporodik és konídiumokat képez a vegetáció során a leveleken, ami potenciális fertőzési forrás az adott kultúrában. Eredményeink alapján a lombkorona belsejéből származó leveleken gyakoribb a kórokozó látens előfordulása. Ennek oka a kórokozó számára kedvezőbb, párásabb

mikroklimatikus körülményekben keresendő, valamint abban, hogy az elsűrűsödött korona belsejét kevésbé lehet átpermetezni. Az irodalmi adatok nem részletezik, hogy a lombkorona egyes részein milyen a látens fertőzött levelek előfordulási aránya.

A levelekről izolált kórokozó morfológiai bélyegei és a molekuláris azonosítás alapján a *C. acutatum* fajkomplex tagja. A levelek színén és fonákán egysesztű, orsó alakú, vékony falú, lekerekített végű, hialin konídiumok képződtek, amely jellemző a kórokozóra (**Baxter és mtsai., 1983; Gunnell és Gubler, 1992**). A tenyészetek morfológiája megegyezett a **Talgø és mtsai. (2007)** által közöltekkel, valamint az általunk 2011-ben és 2012-ben antraknózisos tüneteket mutató, meggy gazdanövényről származó izolátumok tenyészbélyegeivel. Meggylevelekről hét esetben izoláltuk a kórokozót. Valamennyi izolátum a *C. acutatum* fajkomplex tagja, az ITS régió szekvenciája alapján pedig nagy valószínűséggel – a gyümölcsökről izolált kórokozóval megegyezően – a *C. godetiae* fajhoz tartoznak. Meggy gyümölcsök mesterséges fertőzésével bizonyítottuk a későbbiekben, hogy a levélről származó kórokozó képes tüneteket előidézni a gyümölcsökön is. Ez az eredmény a gyakorlati növényvédelem szempontjából is fontos, hiszen a kémiai növényvédelemnek célszerűen hatásosnak kell lennie a kórokozó látens felszaporodásával szemben a gyümölcsökben.

Fajták fogékonysága

A fajták fogékonyságával kapcsolatban kevés irodalmi adat áll rendelkezésünkre. **Oros és mtsai. (2010)** vizsgálatában a 'Pipacs' toleránsnak bizonyult a kórokozóval szemben. Laboratóriumban végzett mesterséges fertőzésen alapuló vizsgálatunk szerint azonban ezt a fajtát 60-80%-ban fertőzte az antraknózis kórokozója. Szabadföldi megfigyeléseink nincsenek a fajttal kapcsolatban. A szerzők szerint a 'Kántorjánosi' és 'Érdi bőtermő' fogékony a betegségre, amit saját szabadföldi megfigyeléseikkel és laboratóriumi vizsgálatainkkal is meg tudunk erősíteni. **Glits (2000)** szerint a 'Cigánymeggy' és a 'Pándy meggy' az egyik legfogékonyabb a betegségre, mi azonban a 'Cigánymeggy' klónokat találtuk a legellenállóbbaknak és szabadföldi körülmények között se figyeltünk meg számottevő fertőzést a fajtakörben. A 'Pándy meggy' esetében viszont mi is hasonló eredményre jutottunk a mesterséges fertőzés alapján, hiszen mindkét izolátum 100%-ban megfertőzte a terméseket. **Kloutvorová és mtsai. (2004)** vizsgálatában az 'Újfehértói fürtös' fajtát találták a legfogékonyabbnak a betegségre, míg az 'Érdi bőtermő' esetében csak 16%-os fertőzöttséget figyeltek meg. Mesterséges fertőzéssel végzett vizsgálatunk eredményei alapján mindkét fajta egyformán fogékonyak mutatkoztak laboratóriumi körülmények között. Szabadföldi megfigyeléseink alapján pedig egyértelműen az 'Újfehértói fürtös' fajta a legfogékonyabb.

Fajtafogékonysági vizsgálatainkat kötődés után 1 héttel kezdtük meg, az inokulált termések átlagos átmérője ekkor kb. 0,5 cm volt. Hat nappal a mesterséges fertőzést követően a

'Kántorjánosi' fajta esetében megjelentek az antraknózis jellemző tünetei. 2013-ban Újfehértón szabadföldi körülmények között is megfigyeltük zöldborsó méretű meggytermések természetes fertőződését. Ezek alapján lehetséges, hogy a kórokozó számára kedvező, csapadékos időjárás mellett akár már az intenzíven növekvő terméseket is meg tudja betegíteni, ahogy ezt **Børve és mtsai. (2010)** is említik.

Növényvédő szerek és termésmnövelő anyagok hatékonysága

A mérgezett agarlemez módszer alkalmasnak bizonyult a növényvédő szerekkel és a termésmnövelő anyagokkal végzett hatásvizsgálatok elvégzésére laboratóriumi körülmények között. A növényvédő szerek micélium növekedésre és konídium csírázásra gyakorolt hatását megfigyelve megállapítottuk, hogy az *in vitro* vizsgálatokban a triazol származékok a leghatékonyabbak a meggyantraknózis kórokozója ellen. **Freemann és mtsai. (1997)** a propikonazol és a difenokonazol, **Adaskaveg és Förster (2000)** valamint **Schilder (2002)** a fenbukonazol, **Paredes és Muñoz (2002)** a propikonazol és a hexakonazol hatóanyagokat használták eredményesen kísérleteikben ebből a hatóanyag csoportból. **Freemann és mtsai. (1997)** laboratóriumi vizsgálatokat végezve, a proklorázt találták a leghatékonyabbnak a *C. acutatum sensu lato* ellen, amit a mi eredményeink is igazolnak, hiszen a prokloráz hatóanyagú Mirage 45EC mind a micélium növekedésére, mind a konídiumok csírázására fungicid hatásúnak bizonyult. **Adaskaveg és Förster (2000)**, valamint **Schilder (2002)** hatásvizsgálataikban a fozetil-Al (Aliette), kaptán (Captan), benomil (Benlate), klórtalonil (Bravo), zírám (Zírám), fenbukonazol (Indar 75WP), miklobutanil (Rally 40WP), tiofanát-metil (Topsin 75WP), azoxistrobin (Abound) és piraklostrobin (Cabrio) hatóanyagokkal érték el a legjobb eredményeket. Laboratóriumi vizsgálataink során mi is felhasználtuk a kaptánt, klórtalonilt, miklobutanilt, tiofanát-metilt és az azoxistrobint, azonban ezek a hatóanyagok nem minden izolátum esetében rendelkeztek gombaölő hatással. **Schilder és mtsai. (2001)** a strobilurinokat hatékonynak tartják a gyümölesöt fertőző *Colletotrichum* fajok ellen. Saját vizsgálataink eredményei ezt nem támasztják alá, hiszen mind az azoxistrobin, mind a trifloxistrobin tartalmú mérgezett agarlemezekon növekedésnek indult az izolátumok többsége. **Glits (2000)** szerint alkalmas a védekezésre a mankoceb hatóanyag is, amely vizsgálatainkban szintén jó hatásfokkal bírt a kórokozó ellen. Alkalmasnak találtuk még a következő hatóanyag-kombinációkat is: trifloxistrobin+tebukonazol, fluopyram+tebukonazol. A réz tartalmú hatóanyagok közül gyakorlati dózisban a tribázikus rézszulfát és a rézoxiklorid bizonyult hatékonynak. Külföldön is rendelkezésre állnak ilyen fungicidek a *Colletotrichum* fajok ellen (**Waller, 1992**). A kontakt készítmények hatása tízszeres hígításban jelentősen lecsökken, ezért a gombaölő szereknél fokozottan figyelni kell a dozírozásra és a megfelelő növényvédő szer borítottság elérésére.

A növényvédő szernek nem minősülő, termésnövelő anyagok közül a Sergomil gyakorlati dózisban 89%-ban gátolta a kórokozó micéliumnövekedését. Ez a készítmény szüret előtti csapadékos időjárás esetén is használható, mert nem rendelkezik élelmezés-egészségügyi várakozási idővel.

Növényvédelmi technológiák hatékonysága

Szabadföldi kisparcellás vizsgálataink során a Bayer II-es technológia bizonyult a leghatékonyabbnak Sós-kúton 'Érdi bőtermő' fajtán vizsgálva, amelyben propineb, tebukonazol és tebukonazol + trifloxistrobin hatóanyagok kerültek felhasználásra. A szerrotáció fontosságára **Verma (2005)** és **Wedge és mtsai. (2007)** is felhívták a figyelmet. **Gomes és mtsai. (2011)** növényvédelmi kézikönyvükben ugyancsak kombinált szerhasználatot javasolnak a tebukonazol hatóanyag esetében. A szerzők is hatékonynak találták a tebukonazol és a trifloxistrobin kombinált alkalmazását. A ditiokarbamátokhoz tartozó propineben kívül a metiram hatóanyaggal is hatásosan lehet védekezni az antraknózis ellen az irodalmi adatok szerint. **Ivanovia és mtsai. (2007)** kísérletei alapján ebben az esetben is érdemes kiegészíteni a kezelést piraklostrobinnal. Az 'Érdi bőtermő' fajtán tapasztalt hatékonyság miatt, a tebukonazol hatóanyagot önmagában is vizsgáltuk. Azonban 2013-ban Kiskunmajsán elvégzett kísérlet szerint a fungicid önmagában kevésbé volt képes megvédeni a 'Kántorjánosi' fajta terméseit. Így ez a kísérlet is a fent említett kombinált hatóanyag felhasználás szükségességét támasztja alá.

A Sumi Agro I-es kezelés típusnál önmagában használtuk a tebukonazol hatóanyagú Folicur Solo növényvédő szert, amely alacsony szinten tudta tartani a fertőzöttség gyakoriságát 'Kántorjánosi' fajta esetében. **Kloutvorová és mtsai. (2004)** ehhez hasonlóan kedvező eredményeket értek el a tebukonazol hatóanyagú Horizon 250 EW növényvédő szer kijuttatásával. Kísérleteikben egyszeri kezeléssel már 90%-ban, kétszeri kezeléssel 99,2%-ban csökkent a fertőzött termések előfordulásának aránya. Az általunk elvégzett kezeléssel, amikor a tebukonazol hatóanyagot egyszer használtuk fel, 14%-ra tudtuk visszaszorítani a fertőzés mértékét. A Sumi Agro II-es technológia esetében Tiuram Granuflo (thiram) növényvédő szert alkalmaztunk, melyet egy lombtrágyával (Sergomil) egészítettünk ki. **Oros és mtsai. (2010)** szerint a hatóanyag önmagában is alkalmazható a meggyantraknózis ellen. **Ivanovia és mtsai. (2007)** kísérlete alapján a hatóanyag akár heti rendszerességgel is felhasználható a növényvédelem során. A Sumi Agro III-as kezeléskor ezt a két anyagot kiegészítettük a boszkalid és piraklostrobin tartalmú Signum növényvédő szerrel, azonban ez a kezelés nem növelte tovább szignifikánsan a kezelés hatékonyságát. A mi eredményeinkkel ellentétben **Wedge és mtsai. (2007)** Louisianában végzett kísérleteiben ezekkel a hatóanyagokkal tudták a legjobb hatékonyságot elérni. **Verma (2005)** ajánlása szerint is a két hatóanyag együttes alkalmazása a preventív és kuratív hatás miatt

megfelelő az antraknózis elleni védekezésben. **Turechek és mtsai. (2006)** a piraklostrobint önmagában alkalmazta csapadékos időjárás mellett és még így is eredményesen tudtak védekezni a *C. acutatum sensu lato* ellen.

Sóskúton 2013-ban a Bayer II és az üzemi technológia is 100%-os termésvédelmet eredményezett. Ennek okai egyrészt az előző évi aszályos időjárás okozta inokulum csökkenés, másrészt a megfelelő időpontban elvégzett kezelések lehettek; pedig a 2013-as év esősebb tavasza és az érés során hulló többszöri csapadék alapvetően kedvezett volna a gomba felszaporodásának és az infekciónak. **Leandro és mtsai. (2003)** bizonyították, hogy a csapadék utáni magas páratartalom igen kedvez a kórokozó fertőzésének. A konídiumok gyorsan csíráznak, sőt a szerzők másodlagos konídiumok képződését is megfigyelték. **Turechek és mtsai. (2006)** valamint **Ivanovia és mtsai. (2007)** szerint is az érett terméseknél a magas páratartalom segít a penetrációban és a kolonizációban. A kezeléseket Sóskúton 2013-ban a gyakori csapadék miatt szükségesnek láttuk még egy kezeléssel kiegészíteni. A permetezéseket a csapadékos napok után azonnal elvégezték. **Turechek és mtsai. (2006)** szerint is az időjáráshoz igazított technológia a legmegfelelőbb a védekezés szempontjából, bár hozzáteszi, hogy a feltételeit nehéz megteremteni, ezért sok termesztő inkább a naptár szerinti permetezési fordulókat részesíti előnyben.

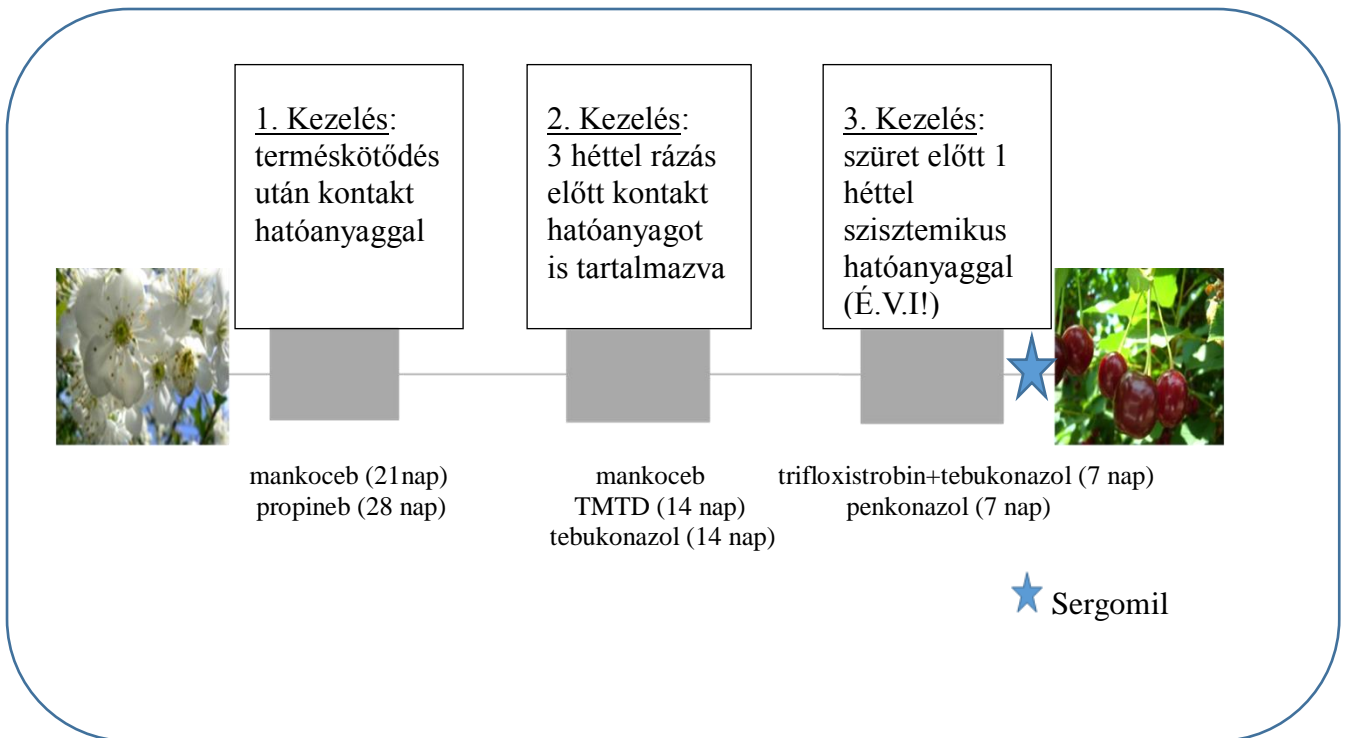
Ivanovia és mtsai. (2007), valamint **Živković és mtsai. (2012)** is leírják, hogy részben postharvest megbetegedést is okoz az antraknózis kórokozója. Erről a hazai termesztők is többször beszámoltak az elmúlt években. Több esetben is visszafordítottak kamiont, mert a szállítás során megjelentek az antraknózis tünetei a gyümölcsökön. A technológiák értékelését ezért tovább folytattuk úgy, hogy 7 napon keresztül hűtőszekrényben (4 °C-on) tároltuk a leszedett gyümölcsöket. A tárolás után csak egy-egy termésen alakultak ki tünetek, így megállapítottuk, hogy valamennyi Kiskunmajsán tesztelt technológia hatékonyan előzte meg a postharvest fertőzést. Továbbá a hűtött tárolás is segítette a tárolási betegség visszaszorítását. **Everett (2003)** kísérletében megállapította, hogy 4,1-5,5 °C-on a spórák csírázása 50%-kal csökken. Más vélemény szerint a termések hűtött tárolása nincs semmiféle hatással a kórokozóra (**Leandro és mtsai., 2001**).

Összehasonlítva a kezelések hektárköltségét, valamint a felhasznált növényvédő szerek mennyiségét, a sóskúti üzemi technológiát találtuk a legkedvezőbbnek. Ebben az esetben használták fel a legkevesebb fungicidet és egyben ennek a kezelésnek a legalacsonyabb a hektárköltsége. Az összehasonlítást tovább folytatva, a Bayer I-es és a Sumi Agro I-es kezelések következnek a sorban, melyek árát a kezdeti közös kezelések növelték meg jelentősen, azonban a fungicid felhasználás ezekben az esetekben is mértéktartó volt. A Bayer II-es és a Sumi Agro II-es technológiák bizonyultak a statisztikai módszerek alapján a legkedvezőbb hatásúnak. A felhasznált növényvédő szerek mennyisége itt már ugyan magasabb. Ezen technológiák használata

olyan ültetvényekben lehet indokolt, ahol a kórokozó évek óta igen súlyos, járványszerű megbetegedéseket okoz és az ültetvény kondíciója is elmarad az optimálistól. Ebben az esetben a fungicidek ára hosszabb távon megtérül és ha egy-két év alatt sikerül az inokulum mennyiségét visszaszorítani, akkor át lehet térni egy mérsékeltebb fungicid felhasználású technológiára. A kiskunmajsai üzemi technológia és Sumi Agro III-as kezelések esetében mértük a legnagyobb fertőzöttséget, ezek a kezelések voltak a legdrágábbak is egyben, ezen kívül a kiskunmajsai üzemi kezeléseknél használták fel a legtöbb növényvédő szert. Így ez a technológia átalakításra szorul.

Az irodalmi adatokat és az eredményeinket összefoglalva a növényvédelmi technológia legfontosabb elemei és befolyásoló tényezői a következők:

- A fán maradó gyümölcsmúmiák és gyümölcskocsányok a legfontosabb fertőzési források. (A hatékony szüret érdekében fontos a rázás időpontjának optimális megválasztása, illetve lehetőség van Ethrel használatára is.)
- A kórokozó képes a leveleken (főleg a lombkorona belsejében) látens módon fennmaradni és azokon fertőzőképes konídiumokat képezni. Sűrű lombkorona esetében erőteljes ritkító metszés ajánlott (mikroklíma befolyásolása, permetezés hatékonyságának növelése miatt).
- A meggyantraknózis kórokozója ellen, fogékony fajta esetén három kezelés szükséges. A kórokozó számára kedvező, az átlagosnál csapadékosabb, párás időjárás esetén indokolt lehet egy negyedik permetezés.
- Folyamatos, célzott növényvédelemmel évről-évre csökkenthető az inokulum mennyisége, így a kórokozó visszaszorítható az ültetvényben.
- A három kezeléskor az első kontakt hatóanyaggal végezzük, mely akadályozza a gomba látens felszaporodását és sporulációját. A második kezelés a kontakt készítmény mellett már szisztémikus hatásmechanizmusú növényvédő szert is tartalmazzon, végül a harmadik kezelés felszívódó növényvédő szerrel történjen (**51. ábra**). A kezeléseknél fokozottan figyelni kell az ételmezés-egészségügyi várakozási idő betartására.
- A Sergomil növény kondicionáló készítmény közvetlenül is gátolja a kórokozó micéliumának növekedését és a konídiumok csírázását. Ételmezés-egészségügyi várakozási idővel nem kell számolni, így akár a szüretet megelőző héten is kijuttatható.



51. ábra Javasolt növényvédelmi kezelések terméskötődéstől érésig, célzottan a meggyantraknózis kórokozója ellen fogékony fajta esetén

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Hazánkban a meggy antraknózisa az utóbbi években súlyos veszteségeket okozott a termesztőknek. A betegség kórokozójaként ismert *Colletotrichum acutatum* a legújabb kutatási eredmények szerint nem egy faj, hanem több fajt magába foglaló fajkomplex, így a taxonómiai meghatározáshoz a kórokozó morfológiai vizsgálatán túl elengedhetetlenek a molekuláris vizsgálatok, lehetőleg több régió bevonásával. Vizsgáltuk az antraknózist kiváltó gombák morfológiáját és molekuláris módszerrel taxonómiai hovatartozásukat, a meggyantraknózis kórokozójának biológiáját, a meggyfajták fogékonyságát és a növényvédő szerek hatékonyságát *in vitro* és *in vivo* körülmények között.

Az évek során 56 izolátumot gyűjtöttünk az ország különböző területeiről, meggy, cseresznye, alma, áfonya, füge, som, szamóca, szőlő, paradicsom és banán gazdanövényekről, illetve bevontuk a vizsgálatba a Dr. Lehoczky János által 1956-ban gyűjtött, vizes preparátumként tartósított meggyterméseket is. A gyümölcsökön barna, fénytelen, besüppedő foltokat figyeltünk meg, melyekben megjelentek az acervulusok és a konídiumok narancssárga ragacsos massa formájában. A konídiumok minden esetben egysejtűek, hialinok, bennük gyakran olajcseppek láthatók. Eltéréseket a konídiumok alakjában figyeltünk meg. Hosszúkás, szivar alakú, kihegyesedő végű konídiumok jellemezték a meggyről, cseresznyéről, almáról, áfonyáról, fügeről, szőlőről és paradicsomról származó izolátumokat. A húsos somról, a szamócáról és a banánról származó izolátumok konídiumai rövidebbek, kevésbé megnyúltak, jellemzően ovális alakúak voltak. A kórokozót PDA táptalajon vizsgálva eltérő tenyészbélyegeket figyeltünk meg, melyek alapján csoportosítottuk az izolátumokat. Az áfonyáról, fügeről és az kecskeméti somról származó izolátumok esetében például, jellegzetes lilás színű tenyészeteket figyeltünk meg a táptalajon.

A molekuláris vizsgálatokkal bizonyítottuk, hogy az általunk gyűjtött izolátumok – kettő kivételével – a *C. acutatum* fajkomplexbe tartoznak. A paradicsomról származó *C. coccodes* és a banánról azonosított *C. musae* nem tartoznak a fajkomplex fajai közé. A meggyről, cseresznyéről, almáról, somról (A16) és szőlőről származó izolátumok a *C. godetiae* fajjal mutatják a legnagyobb hasonlóságot, míg az áfonyáról, fügeről, somról (A38) származó izolátumok a *C. fioriniae* fajhoz tartoznak. Néhány izolátumot pedig a *C. nymphaeae* fajhoz soroltunk. Az 1956-ban Lehoczky János által gyűjtött meggytermések molekuláris vizsgálata alapján ez az izolátum is a *C. acutatum* fajkomplexbe tartozik. A hiszton 3 gén és az ITS régió szekvenciája alapján végzett filogenetikai vizsgálat szerint a *C. godetiae* faj egy ősbibb változata lehet.

Hazánkban elsőként azonosítottuk a *C. acutatum sensu lato*-t áfonya, füge és szőlő gyümölcsseiről. Európában elsőként azonosítottuk a húsos som antraknózisát.

A világon elsőként bizonyítottuk a kórokozó áttelelését külső rügpikkelyeken és azt, hogy a gomba látenszen kolonizálja a meggylevelek belső szöveteit, ami potenciális fertőzési forrást jelent a gyümölcsösökben az érés környékén.

Az *in vitro* végzett fajta fogékonyági kísérleteink alapján toleránsnak bizonyult a 'Cigánymeggy' fajta 57-es és 7-es klónja. Fogékonyak találtuk a 'Favorit' és a 'Maliga emléke', az 'Érdi bőtermő', a 'Debreceni bőtermő', a 'Pipacs' és az 'Újfehértói fürtös' fajtákat. Nagyon fogékony fajtának tartjuk az 'Érdi jubileum', a 'Kántorjánosi' és 'Pándy' fajtákat. Szabadföldi megfigyeléseink szerint azonban egyértelműen az 'Újfehértói fürtös' a legfogékonyabb.

Laboratóriumi körülmények között 37 növényvédő szer hatását vizsgáltuk a meggyantraknózis kórokozójának micéliumnövekedésre és a konídiumok csírázására is. A trifloxistrobin+tebukonazol, a prokloráz, a difenokonazol és a penkonazol gyakorlati dózisban és 10x-es hígításban is teljes mértékben gátolta a micélium növekedését. A fluopyram+tebukonazol és a tebukonazol hatóanyagok csak gyakorlati dózisban rendelkeztek fungicid hatással. A kontakt hatóanyagok közül a mankoceb esetében – mindkét vizsgált dózisában – gombaölő hatást figyeltünk meg. A réztartalmú hatóanyagokat vizsgálva, a tribázikus rézsulfát és a rézoxiklorid esetében értük el a legjobb eredményeket. A termésnövelő anyagok közül a Sergomil több, mint 80%-ban gátolta a kórokozó micéliumának növekedését.

Szabadföldi vizsgálatokat Sós-kúton és Kiskunmajsán végeztünk. A Bayer II-es és a Sumi Agro II-es technológiák bizonyultak a legmegfelelőbbnek az antraknózis elleni védelemben. A vizsgált növényvédelmi technológiák értékelése után kidolgoztuk a meggy antraknózisa elleni hatékony növényvédelmet.

7. SUMMARY

In Hungary, serious losses has been observed in sour cherry plantation started few years ago. The pathogen of the disease is known as *Colletotrichum acutatum*, but the latest researches show that's not a detached species, but species complex involving several species. For exact taxonomic identification molecular studies are essential (preferably including several regions) beyond morphological examination. Our aims were to identify fungi causing anthracnose, study their morphology and molecular identification for taxonomic affiliation; to study the biology of the pathogen causing sour cherry anthracnose, to evaluate susceptibility of sour cherry varieties and to test efficiency of pesticides *in vitro* and *in vivo*.

Over the years, 56 isolates were collected from different areas of Hungary originated from different hosts: sour cherry, cherry, apple, blueberry, fig, cornelian, strawberry, grape, tomato and banana. Preserved sour cherry fruits from 1956, collected by Dr. János Lehoczky, were included in our study as well. Usual anthracnose symptoms were observed on infected fruits. Brown, dull, sunken spots appeared on the fruits. In the lesions acervuli and orange, sticky conidial mass were present. Conidia were unicellular, hyaline, oil droplets were often visible. Deviations were observed considering the shape of conidia. Conidia of isolates from sour cherries, cherry, apple, blueberry, figs, grapes and tomato are hyaline, smooth-walled, aseptate, straight, fusiform to cylindrical with both ends acute, while those of from bananas and strawberry were shorter, less elongated, they were typically oval in shape. Examining the colonies of the fungus on PDA medium differences were observed. Isolates were grouped on the basis of the colonial morphology. For example isolates from blueberry, fig and cornelian produced purple colonies on the culture medium.

Molecular studies have proven that collected isolates belong to *C. acutatum* species complex with the exception of two isolates: *C. coccodes* originated from tomato and *C. musae* isolated from banana are not members of the species complex. Isolates from sour cherries, cherry, apple, cornelian (A16) and grape showed the highest similarity with *C. godetiae*, while isolates from blueberry, fig and cornelian (A38) belong to the species *C. fioriniae*. Some of the isolates were classified to the species *C. nymphaeae*. Based on molecular studies the fungus caused anthracnose of sour cherry in 1956 – collected by János Lehoczky – is also the member of *C. acutatum* species complex. Phylogenetic studies carried out on the basis of histone 3 gene and ITS region sequence showed that this pathogen could be the ancestor of *C. godetiae*.

To our knowledge *C. acutatum sensu lato* was first identified from blueberry, fig and grape fruits in Hungary. In Europe we have been described new host plant (*Cornus mas*).

We foremost demonstrated that the pathogen overwintering in sour cherry buds and colonized the inner tissues of cherry leaves without any symptoms, which is a potential source of infection in orchards around the ripening period.

Based on in vitro experiments of varieties' susceptibility 'Cigánymeggy 57' and 'Cigánymeggy 7' has been found tolerant to anthracnose. 'Favorit', 'Maliga emléke', 'Érdi bőtermő', 'Debreceni Bőtermő', 'Pipacs' and 'Újfehértói fürtös' were susceptible, and 'Érdi jubileum', 'Kántorjánosi' and 'Pándy' were highly susceptible varieties.

The effect of 37 pesticides were tested in laboratory against mycelial growth and conidial germination of *C. acutatum sensu lato*. The trifloxystrobin + tebuconazole, prochloraz, difenoconazole, penconazole completely inhibited the growth of the mycelium in both dilutions. The fluopyram + tebuconazole and tebuconazole had fungicid effect in practical dose. Among the active agents mancozeb had fungicid effect in both doses. Considering copper-containing active substances, tribasic copper sulphate and copper oxychloride reached the best results. Sergomil inhibited more than 80% of the fungus' mycelial growth.

Field studies were carried out in Sóskút and Kiskunmajsa. The Bayer II. and Sumi Agro II. technologies proved to be the most appropriate against anthracnose. After the tested plant protection technologies we have been developed the effective plant protection against sour cherry anthracnose.

8. MELLÉKLETEK

1. melléklet: Irodalomjegyzék

1. **Adaskaveg J.E. and Hartin R.J.** (1997): Characterization of *Colletotrichum acutatum* isolates causing anthracnose of almond and peach in California. *Phytopathology*, 87: 979–987.
2. **Adaskaveg, J.E. and Förster, H.** (2000): Occurrence and management of anthracnose epidemics caused by *Colletotrichum* species on tree fruit crops in California. In: Prusky, D., Freeman, S. and Dickman, M. B. (eds.), *Colletotrichum: Host Specificity, Pathology, and Host-Pathogen Interaction*, The American Phytopathological Society. St. Paul MN. 317–336.
3. **Arzanlou, M. and Torbati, M.** (2013): Phenotypic and molecular characterization of *Colletotrichum acutatum*, the casual agent of anthracnose disease on *Cornus mas* in Iran. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 46 (7): 518–525.
4. **Arx J.A. von** (1970): A revision of the fungi classified as *Gloeosporium*. *Bibliotheca Mycologica*, 24: 1–203.
5. **Ayliffe, M.A., Dodds, P.N. and Lawrence, G.J.** (2001): Characterisation of a β -tubulin gene from *Melampsora lini* and comparison of fungal β -tubulin genes. *Mycological Research*, 105: 818–826.
6. **Bailey, J.A. és Jeger, M.J.** (1992): *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. CAB International. Wallingford UK, 88–120.
7. **Baroncelli, R.** (2012): *Colletotrichum acutatum sensu lato: from diversity study to genome analyses*. University of Warwick, School of Life Sciences. Thesis.
8. **Baroncelli, R., Sreenivasaprasad, S., Lane, C. R., Thon, M.R. and Sunko, S.A.** (2014): First report of *Colletotrichum acutatum sensu lato* (*Colletotrichum godetiae*) causing anthracnose on grapevine (*Vitis vinifera*) in the United Kingdom. *New Disease Reports*, 29: 26.
9. **Baxter, A.P., Westhuizen, G.C.A. Van der and Eicker, A.** (1983): Morphology and taxonomy of South African isolates of *Colletotrichum*. *South African Journal of Botany*, 2: 259–289.
10. **Begerow, D., John, B. and Oberwinkler, F.** (2004): Evolutionary relationships among β -tubulin gene sequences of basidiomycetous fungi. *Mycological Research*, 108: 1257–1263.
11. **Békési P.** (2013): Meggy antraknózis. *Agróforum*, 24: 42–47.

12. **Bernstein, B., Zehr, E.I., Dean, R.A. and Shabi, E.** (1995): Characteristics of *Colletotrichum acutatum* from peach, apple, pecan and other hosts. *Plant Disease*, 79: 478–482.
13. **Børve, J. and Stensvand, A.** (2006a): *Colletotrichum acutatum* overwinters on sweet cherry buds. *Plant Disease*, 11: 1452–1456.
14. **Børve, J. and Stensvand, A.** (2006b): Timing of fungicide applications against anthracnose in sweet and sour cherry production in Norway. *Crop Protection*, 25: 781–787.
15. **Børve, J. and Stensvand, A.** (2007): *Colletotrichum acutatum* found on apple buds in Norway. <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/brief/2007/apple/>
16. **Børve, J., Dønne, R.T. and Stensvand, A.** (2010): *Colletotrichum acutatum* occurs asymptotically on sweet cherry leaves. *European Journal of Plant Pathology*, 3: 325–332.
17. **Burak, M. and Eris, A.** (2008): Anthracnose - an emerging disease on sweet cherry. International Cherry Symposium (5.) (2005) (Bursa, Turkey), *Acta Horticulturae*, 0567–7572; 795.
18. **CABI** (2016): <http://www.cabi.org/isc/datasheet/14889/> Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: cabi. Lekérdezés időpontja: 2016.03.10.
19. **Cannon, P.F., Damm, U., Johnston, P.R. and Weir, B.S.** (2012): *Colletotrichum* – current status and future directions. *Studies in Mycology*, 73: 181–213.
20. **Chellemi, D.O., Knox, G. and Palm, M.E.** (1993): Limb dieback of flowering dogwood caused by *Colletotrichum acutatum*. *Plant Disease*, 77: 100.
21. **Chen, G. and Li, H.** (2010): Species and population diversity of *Colletotrichum* spp. causing citrus anthracnose in China. College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Institute of Biotechnology.
22. **Cho, S.J., Lee, S.K., Cha, B.J. and Kim, Y.H.** (2003): Detection and characterization of the *Gloeosporium gloeosporioides* growth inhibitory compound iturin A from *Bacillus subtilis* strain KS03. *FEMS Microbiology Letters*, 223: 47–51.
23. **Choi, I.Y., Park, J.H., Cho, S.E. and Shin, H.D.** (2013): First Confirmed Report of Anthracnose Fruit Rot Caused by *Colletotrichum gloeosporioides* on Common Fig in Korea. *Plant Disease*, 97 (8): 1119.
24. **Chung, W.-H., Ishii, H., Nishimura, K., Fukaya, M., Yano, K. and Kajitani, Y.** (2006): Fungicide sensitivity and phylogenetic relationship of anthracnose fungi isolated from various fruit crops in Japan. *Plant Disease*, 90: 506–512.

25. **Cohen, P. and Klee, C.B.** (1988): Calmodulin: Molecular Aspects of Cellular Regulation V.5. Elsevier, Amsterdam.
26. **Crouch, J.A., Clarke, B.B. and Hillman, B.I.** (2009): What is the value of ITS sequence data in *Colletotrichum* systematics and species diagnosis? A case study using the falcate-spored gramminicolous *Colletotrichum* group. *Mycologia*, 101: 648–656.
27. **Crous, P.W., Groenewald, J.Z., Risède, J-M, Simoneau, P. and Hywel-Jones, N.L.** (2004): *Calonectria* species and their *Cylindrocladium* anamorphs: species with sphaeropedunculate vesicles. *Studies in Mycology*, 50: 415–430.
28. **Crusius, L.U., Forcelini, C.A., Sanhueza, R.M.V. and Fernandes, J.M.C.** (2002): Epidemiology of apple leaf spot. *Fitopatologia brasileira*, 27: 65–70.
29. **Damm, U., Cannon, P.F., Woudenberg, J.H.C. and Crous, P.W.** (2012): The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology*, 73: 37–113.
30. **Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R. és Posada, D.** (2012): jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9 (8): 772.
31. **Dean, R., Van Kan, J.A.L., Pretorius, Z.A., Hammond-Kosack, K.E., Di Pietro, A., et al.** (2012): The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13: 414–430.
32. **DeMarsay, A. and Oudemans, P.V.** (2002): Reservoirs of *Colletotrichum acutatum* in dormant and growing highbush blueberry. *Phytopathology*, 92: 143.
33. **Denoyes, B. and Baudry, A.** (1991): Characterization of species of *Colletotrichum* isolated from strawberry in France: taxonomy and pathogenicity (abstract). In: *Strawberry Diseases and Breeding for Varietal Resistance (International Workshop, Bordeaux 1991)*.
34. **Denoyes-Rothan, B., Guérin, G., Délye, C., Smith, B., Minz, D., Maymon, M. and Freeman, S.** (2003): Genetic Diversity and Pathogenic Variability Among Isolates of *Colletotrichum* Species from Strawberry. *Phytopathology*, 93: 219–228.
35. **Drummond, A.J., Suchard, M.A., Xie, D. and Rambaut, A.** (2012): Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7 *Molecular Biology And Evolution* 29: 1969–1973.
36. **Du, M., Schardl, C.L. and Vaillancourt, L.J.** (2005): Using mating-type gene sequences for improved phylogenetic resolution of *Colletotrichum* species complexes. *Mycologia*, 97: 641–658.
37. **Eastburn, D.M. and Gubler, W.D.** (1992): Effects of soil moisture and temperature on the survival of *Colletotrichum acutatum*. *Plant Disease*, 76: 841–842.
38. **El-Gholl, N.E. and Alfieri, S.A. Jr.** (1994): *Colletotrichum* Leaf and Fruit Spot of Fig, *Ficus carica* L.1. *Plant Pathology Circular*, 365.

39. **EPPO** (2004): Diagnostic protocols for regulated pests/Protocoles de diagnostic pour les organismes réglementés *Glomerella acutata* OEPP/EPPO Bulletin, 34: 193–199.
40. **EPPO** (2013): EPPO PQR adatbázis kezelő program
41. **Everett, K. R.** (2003): The effect of low temperatures on *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides* causing body rots of avocados in New Zealand. Australasian Plant Patholog, 32: 441–448.
42. **Faedda, R., Agosteo, G.E., Schena, L., Mosca, S., Frisullo, S., Magnano di San Lio, G. and Cacciola, S.O.** (2011): *Colletotrichum clavatum* sp. nov. identified as the causal agent of olive anthracnose in Italy. Phytopathologia Mediterranea, 50: 283–302.
43. **Farr, D.F., Aime, M.C., Rossman, A.Y. and Palm, M.E.** (2006): Species of *Colletotrichum* on *Agavaceae*. Mycological Research, 110: 1395–1408.
44. **Fitzell, R.D. and Peak, C.M.** (1984): The epidemiology of anthracnose disease of mango – Inoculum sources, spore production and dispersal. Annals of Applied Biology, 104: 53–59.
45. **Fitzell, R.D., Peak, C.M. and Parnell, R.E.** (1984): A model for estimating infection levels of anthracnose disease of mango. Annals of Applied Biology, 104: 451–458.
46. **Freeman, S., Nizani, Y., Dotan, S., Even, S. and Sando, T.** (1997): Control of *Colletotrichum acutatum* in strawberry under laboratory, greenhouse, and field conditions. Plant Disease, 81: 749–752.
47. **Freeman, S., Katan, T. and Shabi, E.** (1998): Characterization of *Colletotrichum* Species Responsible for Anthracnose Diseases of Various Fruits. Plant Disease, 82: 596–605.
48. **Freeman, S., Horowitz, S. and Sharon, A.** (2001a): Genetic Diversity Within *Colletotrichum acutatum sensu* Simmonds. Phytopathology, 91: 586–592.
49. **Freeman, S., Minz, D., Maymon, M. and Zveibil, A.** (2001b): Pathogenic and non-pathogenic lifestyles in *Colletotrichum acutatum* from strawberry and other plants. Phytopathology, 91: 986–992.
50. **Freeman, S., Minz, D., Kolesnik, I., Barbul, O., Zveibil, A., Maymon, M., Nitzani, Y., Kirshner, B., Rav-David, D., Bilu, A., Dag, A. and Shafir, S.** (2004): *Trichoderma* biocontrol of *Colletotrichum acutatum* and *Botrytis cinerea* and survival in strawberry. European Journal of Plant Pathology, 110: 361–370.
51. **Fukaya, M.** (2001): Control of grapevine ripe rot and fluctuation of fungicide sensitivity of the pathogen. Phytopathological Society of Japan, 9–15.
52. **Gelfand, A.E. and Smith, A.F.M.** (1990): Sampling-based approaches to calculating marginal densities. Journal of the American Statistical Association, 85: 398–409.

53. **Glits M.** (2000): Meggy. 201–210 p. In: Glits M. és Folk Gy. (szerk.): Kertészeti Növénykórtan. Budapest: Mezőgazda Kiadó. 559.
54. **Gomes, S., Bacelar, E., Martins-Lopes, P., Carvalho, T. and Guedes-Pinto, H.** (2011): Infection Process of Olive Fruits by *Colletotrichum acutatum* and the Protective Role of the Cuticle and Epidermis. *Journal of Agricultural Science*, 4 (2): 101–110.
55. **Grădinariu, G., Istrate, M., Budan, S., Petre, L., Corneanu, G., Corneanu, M. and Popescu, A.** (2008): New cherry cultivars and hybrids created at iasi fruit research station, Romania. *Acta Horticulturae*, 795: 137–140.
56. **Griffiths, E.** (1981): Pathogenic plant diseases. *Annual Review Phytopathology*, 19: 69–82.
57. **Guerber, J.C. and Correll, J.C.** (2001): Characterization of *Glomerella acutata*, the teleomorph of *Colletotrichum acutatum*. *Mycologia*, 93: 216–229.
58. **Guerber, J.C., Liu, B., Correll, J.C. and Johnston, P.R.** (2003): Characterization of diversity in *Colletotrichum acutatum* sensu lato by sequence analysis of two gene introns, mtDNA and intron RFLPs, and mating compatibility. *Mycologia*, 95: 872–895.
59. **Guindon, S. and Gascuel, O.** (2003): A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood". *Systematic Biology*, 52: 696–704.
60. **Gunnell, P.S. and Gubler, W.D.** (1992): Taxonomy and morphology of *Colletotrichum* species pathogenic to strawberry. *Mycologia*, 84: 157–165.
61. **Haller G.** (2014): Termésnövelő anyagok. In: Ocskó Z., Erdős Gy., Molnár J. és Haller G. (szerk.): Növényvédő szerek, termésnövelő anyagok 2014. Agrinex Bt.
62. **Harnos Zs. és Ladányi M.** (2005): Biometria agrártudományi alkalmazásokkal. Aula Kiadó Kft. 133–142.
63. **Hentschel, C.C. and Birnstiel, M.L.** (1981): The Organization and Expression of Histone Gene Families. *Cell Press*, 25: 301–303.
64. **Holb I.** (2005): A gyümölcsösök és a szőlő ökológiai növényvédelme. Budapest, Mezőgazda Kiadó.
65. <http://olivediseases.com/olive-diseases/anthracnose/>
Lekérdezés időpontja: 2016.03.10.
66. <http://www.targetmap.com/viewer.aspx?reportId=17213>, 2016
Lekérdezés időpontja: 2016.03.10.
67. **Hyde, K.D., Cai, L., McKenzie, E.H.C., Yang, Y.L., Zang, J.Z. and Prihastuti, H.** (2009): *Colletotrichum*: a catalogue of confusion. *Fungal Diversity*, Online advance
68. **Index Fungorum** (2011): <http://www.indexfungorum.org/> Keresőprogram: Google.
Kulcsszavak: index fungorum. Lekérdezés időpontja: 2016.03.10.

69. **Irinyi L. és Kövics Gy.** (2008): A *Colletotrichum acutatum* első hazai előfordulása szamócán. 13. Tiszáltúli Növényvédelmi Fórum, 66–77.
70. **Ivanovia, M.S., Duduk, B.B., Ivanovia, M.M. and Ivanovia, M.S.** (2007): Antracnose- A new strawberry disease in Serbia and its control by fungicides. Proceedings of Natural Sciences, 113: 71–81.
71. **James, P., Vorherr, T. and Carafoli, E.** (1995): Calmodulin-binding domains: just two-faced or multifaceted. Trends in Biochemical Sciences, 20: 38–42.
72. **Jayasinghe, C.K., Fernando, T.H.P.S. and Priyanka, U.M.S.** (1997): *Colletotrichum acutatum* is the main cause of *Colletotrichum* leaf disease of rubber in Sri Lanka. Mycopathologia, 137: 53–56.
73. **Jeffries, P., Dodd, J.C., Jeger, M.J. and Plumbey, R.A.** (1990): The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruit crops. Plant Pathology, 39: 343–366.
74. **Jertberg, J.** (2009): Screening for non-host rotation crops of *Colletotrichum acutatum* for strawberry nurseries in California. Sustainable Agriculture Research & Education ©2014 Project, Final Report, Plant Pathology Department, University of CA Davis, One Shields Avenue, Davis, CA, 95616. <http://mysare.sare.org/mySARE/ProjectReport.aspx?do=viewReport&pn=GW08-015&y=2009&t=1>
75. **Johnston, P.R. and Jones, D.** (1997): Relationships among *Colletotrichum* isolates from fruit-rots assessed using rDNA sequences. Mycologia, 89: 420–430.
76. **Johnston, P.R., Dodd, S., Park, D., Massey, B., Charuchinda, B., et al.** (2008): Are stable, consistent, reliable, and useful species names possible within *Colletotrichum*? In: *Colletotrichum* Diseases of Fruit Crops (Peres NA, Timmer LW, eds). Pre-Congress workshop, ICPP 2008, August 24, Torino, Italy, 1–7.
77. **Jukes, T.H. and Cantor, C.R.** (1969): Evolution of protein molecules. In: Munro HN (Ed.): Mammalian Protein Metabolism, Academic Press, New York. 21–132.
78. **Kloutvorová, J., Lánska, M. and Egert, P.** (2004): New possibilities for protecting stone fruit with the fungicide Horizon 250 EW. Bayer Crop Science, Online Courier, http://www.agrocourier.com/bayer/cropscience/cscms.nsf/id/_Hor_Agro?open&ccm=200170
79. **Körtvély A. és Véghelyi K.** (1974): Gombás betegségek. 70–128. In: Jenser G. (szerk.): Gyümölcsfák védelme. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó. 108–109.
80. **Központi Statisztikai Hivatal, KSH** (2015): https://www.ksh.hu/docs/hun/xstadat/xstadat_eves/i_omn006b.html Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: meggy termőterület. Lekérdezés időpontja: 2017.01.31.

81. **LaMondia, J.A.** (1995): Inhibition with benomyl to growth *in vitro* of *Colletotrichum acutatum* and *C. fragariae* and strawberry fruit infection by benomyl-resistant isolates of *C. acutatum*. *Advances in Strawberry Research*, 14: 25–30.
82. **Lardner R., Johnston P.R., Plummer K.M. and Pearson M.N.** (1999): Morphological and molecular analysis of *Colletotrichum acutatum sensu lato*. *Mycological Research*, 103: 275–285.
83. **Latinovic, J., Latinovic, N., Tiodorovic, J. and Odalovic, A.** (2012): First Report of Anthracnose Fruit Rot of Strawberry Caused by *Colletotrichum acutatum* in Montenegro. Biotechnical faculty, University of Montenegro.
84. **Leandro, L.F.S., Gleason, M.L., Nutter, F.W., Jr., Wegulo, S.N. and Dixon, P.M.** (2001): Germination and sporulation of *Colletotrichum acutatum* on symptomless strawberry leaves. *Phytopathology*, 91: 659–664.
85. **Leandro, L.F.S., Gleason, M.L., Nutter, F.W., Jr., Wegulo, S.N., and Dixon, P.M.** (2003): Strawberry plant extracts stimulate secondary conidiation by *Colletotrichum acutatum* on symptomless leaves. *Phytopathology*, 93: 1285–1291.
86. **Lehoczky J.** (1957): A meggy glöosporiózisának hazai előfordulása. *Kertészeti és Szőlészeti Főiskola Évkönyve*. XIX/2, 1–15. Mezőgazdasági Kiadó.
87. **Lehoczky J.** (1959): A cseresznye glöosporiumos gyümölcsrothadásának hazai előfordulása. *A növényvédelem időszerű kérdései*. Mezőgazdasági Kiadó. 72–75.
88. **Liu, F., Hyde, K.D. and Cai, L.** (2011): Neotypification of *Colletotrichum coccodes*, the causal agent of potato black dot disease and tomato anthracnose. *Mycology*, 2: 248–254.
89. **Lubbe, C.M., Denman, S., Cannon, P.F., Groenewald, J.Z., Lamprecht, S.C. and Crous, P.W.** (2004): Characterization of *Colletotrichum* species associated with diseases of Proteaceae. *Mycologia* 96: 1268–1279.
90. **MacKenzie, S.J., Peres, N.A., Barquero, M.P., Arauz, L.F. and Timmer, L.W.** (2009): Host range and genetic relatedness of *Colletotrichum acutatum* isolates from fruit crops and leatherleaf fern in Florida. *Phytopathology*, 99: 620–631.
91. **Marascuillo, L.A. and Serlin, R.C.** (1988): *Statistical methods for the social and behavioral sciences*. Freeman. New York.
92. **Mari, M., Guidarelli, M., Martini, C. and Spadoni, A.** (2012): First report of *Colletotrichum acutatum* causing bitter rot on apple in Italy. *Plant Disease*, 96 (1): 144.2–144.2.
93. **McKay, S.F., Freeman, S., Minz, D., Maymon, M., Sedgley, M., Collins, G.C. and Scott, E.S.** (2009): Morphological, Genetic, and Pathogenic Characterization of *Colletotrichum acutatum*, the Cause of Anthracnose of Almond in Australia.

- Phytopathology, 99: 985–995.
94. **Mertely, J.C. and Legard, D.E.** (2004): Detection, isolation, and pathogenicity of *Colletotrichum* spp. From strawberry petioles. *Plant Disease*, 88: 407–412.
 95. **Michel, V.V., Hollenstein, R., Stensvand, A. and Strømeng, G.M.** (2013): *Colletotrichum acutatum*, agent of anthracnose on the new host black elderberry (*Sambucus nigra*) in Switzerland. *Plant Disease*, 97: 1246.
 96. **Mycobank** (2011): Fungal Databases Nomenclature and Species Banks. <http://www.mycobank.org/> Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: Mycobank. Lekérdezés időpontja: 2016.03.10.
 97. **Neely, D. and Nolte, D. S.** (1989): *Septoria* leaf spot on dogwoods. *Journal of Arboriculture*, 15 (11): 263–266.
 98. **NÉBIH** (2017): Nemzeti Élelmiszerlánc – biztonsági Hivatal. <https://novenyvedoszer.nebih.gov.hu/Engedelykereso/kereso/> Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: NÉBIH, növényvédőszer. Lekérdezés időpontja: 2017. 01. 13.
 99. **Nirenberg, H.I., Feiler, U. and Hagedorn, G.** (2002): Description of *Colletotrichum lupini* comb. nov. in modern terms. *Mycologia*, 94: 307–320.
 100. **Norman, D.J. and Strandberg, J.O.** (2012): Survival and Dissemination of Fern Anthracnose (*Colletotrichum acutatum*) Spores in Commercial Ferneries. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 125: 303–306.
 101. **O'Donnell, K.** (1993): *Fusarium* and its near relatives, pp. 225–233. In: Reynolds, D.R., and Taylor, J.W. (Eds.). *The Fungal Holomorph: Mitotic, Meiotic and Pleomorphic Speciation in Fungal Systemics*. CAB International, Wallingford, UK.
 102. **O'Donnell, K., Nirenberg, H.I., Aoki, T. and Cigelnik, E.** (2000): A multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: Detection of additional phylogenetically distinct species. *Mycoscience*, 41: 61–78.
 103. **Ocskó Z.** (2014): Engedélyezett növényvédő szerek fontosabb adatai és felhasználási területük. 8–504. In: Ocskó Z., Erdős Gy., Molnár J. és Haller G. (szerk.): *Növényvédő szerek, terménynövelő anyagok 2014*. Agrinex Bt.
 104. **Oros Gy., Vajna L., Balázs K., Fekete Z., Naár Z. és Eszéki E.** (2010): A meggy antraknózis kórokozójának tulajdonságai és a védekezés lehetőségei, különös tekintettel az újfelhértői *Glomerella* populációra. *Agrártudományi közlemények*, 39: 12–17.
 105. **Paredes, B.S.G. and Muñoz, F.R.** (2002): Effect of different fungicides in the control of *Colletotrichum acutatum*, casual agent of anthracnose crown rot in strawberry plants. *Crop Protection*, 21: 11–15.
 106. **Peres, N.A., Timmer, L. , Adaskaveg, J.E. and Correll, J.C.** (2005): Lifestyles of

- Colletotrichum acutatum*. Plant Disease, 89: 784–796.
107. **Polashock, J.J., Oudemans, P.V., Caruso, F.L., Memanus, P. and Crouch, J.** (2009): Population structure of the North American cranberry fruit rot complex. Plant Pathology, 58: 1116–1127.
 108. **Polashock, J. and Oudemans, P.V.** (2011): Characterization of *Colletotrichum acutatum* infecting *Vaccinium* spp. Genetic Improvement of Fruits and Vegetables, USDA–ARS.
 109. **Pollok, J.R., Mansfield, M.A., Gugino, B.K. and May, S.R.** (2012): First report of leaf curl on celery caused by *Colletotrichum acutatum* in the United States. Plant Disease, 96: 1692.
 110. **Posada, D. and Crandall, K.A.** (1998): MODELTEST: testing the model of DNA substitution. Bioinformatics, 14 (9): 817–818.
 111. **Prihastuti, H., Cai, L., Chen, H., McKenzie, E.H.C. and Hyde, K.D.** (2009): Characterization of *Colletotrichum* species associated with coffee berries in northern Thailand. Fungal Diversity, 39: 89–109.
 112. **Prusky, D., Kobiler, I., Ardi, R., Beno-Moalem, D., Yakoby, N. and Keen, N.T.** (2000): Resistance mechanisms of subtropical fruits to *Colletotrichum gloeosporioides*. In: Prusky, D., Freeman, S. and Dickman, M.B. (eds.), *Colletotrichum: Host Specificity, Pathology, and Host-Pathogen Interaction*: 232–244. The American Phytopathological Society. St. Paul MN.
 113. **Redlin, S. C.** (1991): *Discula destructiva* sp. nov., cause of dogwood anthracnose. Mycologia, 83: 633–642.
 114. **Reiczigel J., Harnos A. és Solymosi N.** (2007): Biostatisztika nem statisztikusoknak. Pars Kft. Nagykovácsi.
 115. **Samuelian, S.K., Greer, L.A., Savocchia, S. and Steel, C.C.** (2011): Detection and Monitoring of *Greeneria uvicola* and *Colletotrichum acutatum* Development on Grapevines by Real-Time PCR. Plant Disease, 95: 298–303.
 116. **Schilder, A.M.C., Gillett, J.M. and Sysak, R.W.** (2001): Evaluation of fungicides for control of anthracnose fruit rot of blueberries Fungicide and Infanticide Tests 2001: SMF5, [<http://www.scisoc.org/online/FNtests/2001/top.htm>]
 117. **Schilder, A.M.C.** (2002): Small fruit fungicides. In: Fruit Spraying Calendar of Michigan State University Extension Bulletin. Michigan State University. East Lansing, MI. 95–105.

118. **Schloemann, S., Bonanno, R., Caruso, F., Los, L., Handley, D., Hazelrigg, A., Grube, B., Eaton, A., Smith, C., Hamilton, G. and Faubert, H.** (2010-2011): New England small fruit pest management guide.
119. **Sergeeva, V., Spooner-Hart, R. and Nair, N.G.** (2008): First report of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* causing leaf spots of olives (*Olea europaea*) in Australia. Australasian Plant Disease Notes, 3: 143–144.
120. **Shiraishi, M., Koide, M., Itamura, H., Yamada, M., Mitani, N., Ueno, T., Nakaune, R. and Nakano, M.** (2007): Screening for resistance to ripe rot caused by *Colletotrichum acutatum* in grape germplasm. Vitis, 46 (4): 196–200.
121. **Shivas, R.G. and 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.
122. **Simmonds, J. H.** (1965): A study of the species of *Colletotrichum* causing ripe fruit rots in Queensland. Queensland Journal of Agriculture Science, 22: 437–459.
123. **Smith, V.I.** (1993): Infection of dogwood fruit by *Colletotrichum acutatum* in Connecticut. Plant Disease, 77: 536–537.
124. **Sreenivasaprasad, S., Mills, P.R. and Brown, A.E.** (1994): Nucleotide sequence of the rDNA spacer 1 enables identification of isolates of *Colletotrichum* as *C. acutatum*. Mycological Research, 98: 186–188.
125. **Sreenivasaprasad, S., Mills, P.R., Meehan, B.M. and Brown, A.E.** (1996): Phylogeny and systematics of 18 *Colletotrichum* species based on ribosomal DNA spacer sequences. Genome, 39: 499–512.
126. **Sreenivasaprasad, S. and Talhinhos, P.** (2005): Genotypic and phenotypic diversity in *Colletotrichum acutatum*, a cosmopolitan pathogen causing anthracnose on a wide range of hosts. Molecular Plant Pathology, 6: 361–378.
127. **Strandberg, J.O.** (2001): A new disease of flowering dogwood caused by *Colletotrichum acutatum*. Plant Disease, 85: 229.
128. **Talgø, V., Aamot, H.U., Strømeng, G.M., Klemsdal, S.S. and Stensvand, A.** (2007): *Glomerella acutata* on highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) in Norway. Online. Plant Health Progress doi:10.1094/PHP-2007-0509-01-RS
129. **Talhinhos, P., Sreenivasaprasad, S., Neves-Martin, J. and Oliveira, H.** (2002): Genetic and morphological characterization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of lupins. Phytopathology, 92 (9): 986–996.
130. **Talhinhos, P., Sreenivasaprasad, S., Neves-Martins, J. and Oliveira, H.** (2005): Molecular and phenotypic analyses reveal association of diverse *Colletotrichum acutatum*

- groups and a low level of *C. gloeosporioides* with olive anthracnose. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 2987–2998.
131. **Tantardini, A., Calvi, M., Cavagna, B., Zhang, N. and Geiger, D.** (2004): First report in Italy of dogwood anthracnose on *Cornus florida* and *C.nuttallii* caused by *Discula destructiva*. *Informatore Fitopatologico*, 54 (12): 44–47.
132. **Tarbell, T.** (2008): Molecular characterization of fungal species from pure cultures and environmental samples. Fordham University, Department of Biological Sciences.
133. **Than, P.P., Shivas, R.G., Jeewon, R., Pongsupasamit, S., Marney, T.S., Taylor, P.W.J. and Hyde, K.D.** (2008): Epitypification and phylogeny of *Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds. *Fungal Diversity*, 28: 97–108.
134. **Thatcher, T.H., MacGaffey, J., Bowen, J., Horowitz, S., Shapiro, D.L. and Gorovsky M.A.** (1994): Independent evolutionary origin of histone H3.3-like variants of animals and *Tetrahymena*. *Nucleic Acids Research*, 22: 180–186.
135. **Timmer, L.W. and Brown, G.E.** (2000): Biology and control of anthracnose diseases of citrus. In: Prusky, D., Freeman, S. and Dickman, M. B. (eds.), *Colletotrichum: Host Specificity, Pathology, and Host-Pathogen Interaction*, The American Phytopathological Society. St. Paul MN. 300–316.
136. **Turechek, W.W., Peres, N.A. and Werner, N.A.** (2006): Pre- and post-infection activity of pyraclostrobin for control of anthracnose fruit rot of strawberry caused by *Colletotrichum acutatum*. *Plant Disease*, 90: 862–868.
137. **Van der Aa, H.A., Noordeloos, M.E. and Gruyter, J. de** (1990): Species concepts in some larger genera of the *Coelomycetes*. *Studies in Mycology*, 32: 3–19.
138. **Verma, N.** (2005): Epidemiology of *Colletotrichum acutatum*, cause of anthracnose on highbush blueberry, in British Columbia. Thesis, University of British Columbia, 1–81.
139. **Verma, N., MacDonald, L. and Punja, Z. K.** (2006): Inoculum prevalence, host infection and biological control of *Colletotrichum acutatum*: causal agent of blueberry anthracnose in British Columbia. *Plant Pathology*, 55: 442–450.
140. **Víchová, J., Jílková, B. and Pokorný, R.** (2013): First report of *Colletotrichum acutatum sensu lato* causing anthracnose on gooseberry fruits in the Czech Republic. *Plant Disease*, 97: 1249.
141. **Waller, J.M.** (1992): *Colletotrichum* diseases of perennial and other cash crops. In: Prusky, D., Freeman, S. and Dickman, M. B. (eds.), *Colletotrichum: Host Specificity, Pathology, and Host-Pathogen Interaction*, The American Phytopathological Society. St. Paul MN. 167–185.

142. **Warwar, V. and Dickman, M.B.** (1996): Effects of calcium and calmodulin on spore germination and appressorium development in *Colletotrichum trifolii*. *Applied Environmental Microbiology*, 62: 74–79.
143. **Wedge, D.E., Smith, B.J., Quebedeaux, J.P. and Constantin, R.J.** (2007): Fungicide management strategies for control of strawberry fruit rot diseases in Louisiana and Mississippi. *Crop Protection*, 26: 1449–1458.
144. **Wells, D., Bains, W. and Kedes, L.** (1986): Codon usage in histone gene families of higher eukaryotes reflects functional rather than phylogenetic relationships. *Journal of Molecular Evolution*, 23: 224–241.
145. **Wharton, P.S. and Diéguez-Uribeondo, J.** (2004): The biology of *Colletotrichum acutatum*. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 61: 3–22.
146. **Wharton, P.S. and Schilder, A. C.** (2008): Novel infection strategies of *Colletotrichum acutatum* on ripe blueberry fruit. *Plant Pathology*, 57: 122–134.
147. **White, T.J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor J.** (1990): Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: a guide to methods and applications* (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds). Academic Press, San Diego, USA. 315–322.
148. **Whitelaw-Weckert, M.A., Curtin, S.J., Huang, R., Steel, C.C., Blanchard, C.L. and Roffey, P.E.** (2007): Phylogenetic relationships and pathogenicity of *Colletotrichum acutatum* isolates from grape in subtropical Australia. *Plant Pathology*, 56: 448–463.
149. **Wright, D.G. and Heaton, J.B.** (1991): Susceptibility of celery cultivars to leaf curl caused by *Colletotrichum acutatum*. *Australasian Plant Pathology*, 20: 155–156.
150. **Yang, X.S., Madden, L.V., Reichard, D.L., Wilson, L.L. and Ellis, M.A.** (1992): Splash dispersal of *Colletotrichum acutatum* and *Phytophthora cactorum* from strawberry fruit by single drop impactions. *Phytopathology*, 82: 332–340.
151. **Yoshida, S. and Shirata, A.** (1999): The mulberry anthracnose fungus, *Colletotrichum acutatum*, overwinters on a mulberry tree. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 65: 274–280.
152. **Yoshida, S. and Tsukiboshi, T.** (2002): Shoot blight and leaf spot of blueberry anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum*. *Journal of General Plant Pathology*, 68: 246–248.
153. **You, B.J., Choquer, M. and Chung, K.R.** (2007): The *Colletotrichum acutatum* Gene Encoding a Putative pH-Responsive Transcription Regulator Is a Key Virulence Determinant During Fungal Pathogenesis on Citrus. *APS Journals*, 20 (9): 1149–1160.

154. **Živković, S., Stojanović, S., Ivanović, Ž., Gavrilović, V., Popović, T. and Balaž, J.** (2010): Screening of antagonistic activity of microorganisms against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. Archives of Biological Sciences, 62: 611–623.
155. **Živković, S., Gavrilović, V., Oro, V., Dolovac-Pfaf, E., Stošić, S., Kuzmanović, S. and Ivanović, Ž.** (2012): Identification of *Colletotrichum acutatum* from nectarine fruit. Zaštita bilja, Zagreb, 63 (3): 130–138.
156. **Zulfiqar, M., Brlansky, R.H. and Timmer, L.W.** (1996): Infection of flower and vegetative tissues of citrus by *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides*. Mycologia, 88: 121–128.

2. melléklet: A vizsgált konídiumok átlagos mérete és a szélső értékek

Izolátum neve	Szélső értékek és az átlagos méret	
	Átmérő (µm)	Hosszúság (µm)
A0	(2,98)-3,48-(4,90)	(10,69)-13,46-(17,67)
A1	(3,75)-4,40-(6,25)	(13,75)-19,95-(21,95)
A2	(3,75)-4,45-(6,25)	(12,50)-19,25-(22,25)
A3	(3,07)-5,10-(7,45)	(9,45)-16,31-(19,97)
A4	(3,44)-5,41-(6,83)	(12,63)-17,69-(21,72)
A5	(3,90)-5,30-(6,83)	(14,54)-19,38-(26,51)
A6	(2,61)-4,73-(6,60)	(14,20)-18,36-(23,81)
A7	(3,79)-5,55-(6,95)	(10,91)-15,89-(20,03)
A8	(3,69)-5,41-(6,88)	(11,45)-15,67-(24,88)
A9	(2,78)-4,31-(5,65)	(8,27)-13,65-(21,57)
A10	(3,50)-4,72-(6,22)	(8,32)-14,46-(21,05)
A11	(2,91)-5,10-(7,43)	(7,00)-12,29-(18,56)
A12	(2,43)-3,74-(5,25)	(5,54)-8,58-(13,26)
A13	(4,78)-6,11-(7,64)	(14,28)-17,41-(19,60)
A14	(3,24)-4,52-(5,66)	(12,34)-14,00-(16,83)
A15	(3,88)-4,97-(6,29)	(12,70)-15,37-(17,95)
A16	(4,78)-5,51-(6,74)	(14,44)-16,45-(20,00)
A17	(4,22)-5,72-(6,86)	(12,26)-14,93-(18,56)
A18	(3,62)-4,76-(5,86)	(11,79)-15,32-(18,48)
A19	(3,94)-5,32-(7,07)	(14,34)-17,04-(19,56)
A20	(4,05)-5,56-(6,77)	(12,57)-15,25-(17,04)
A22	(2,78)-4,71-(6,02)	(6,22)-13,78-(17,35)
A23	(2,17)-4,36-(5,83)	(8,54)-13,85-(12,41)
A24	(3,95)-5,29-(7,10)	(13,12)-16,06-(18,85)
A25	(3,38)-5,18-(7,47)	(9,91)-14,81-(23,15)

Izolátum neve	Átmérő (µm)	Hosszúság (µm)
A26	(2,98)-5,24-(7,55)	(9,47)-14,96-(20,41)
A27	(4,14)-4,66-(5,39)	(14,26)-17,30-(20,08)
A28	(3,19)-4,81-(5,84)	(11,00)-14,90-(18,32)
A29	(4,15)-5,33-(6,67)	(13,07)-15,83-(18,34)
A30	(3,56)-4,76-(5,95)	(11,76)-15,65-(19,18)
A31	(4,20)-5,33-(6,97)	(12,09)-16,60-(19,96)
A32	(3,91)-5,42-(7,34)	(14,61)-18,80-(22,25)
A33	(3,44)-4,56-(6,51)	(12,21)-14,62-(17,40)
A34	(3,77)-5,40-(6,52)	(16,22)-18,48-(22,02)
A35	(3,44)-4,24-(5,12)	(7,24)-10,77-(15,97)
A36	(3,79)-4,94-(5,54)	(13,83)-15,64-(17,28)
A37	(3,05)-4,22-(5,23)	(9,86)-15,50-(20,78)
A38	(4,71)-5,63-(6,64)	(11,91)-14,25-(18,01)
A39	(5,51)-6,87-(7,96)	(12,30)-14,35-(16,89)
A40	(3,85)-4,93-(5,80)	(11,87)-15,13-(18,69)
A41	(4,40)-5,50-(6,42)	(13,94)-14,35-(17,12)
A42	(3,29)-4,48-(5,94)	(12,71)-14,86-(16,32)
A43	(4,71)-5,11-(6,34)	(12,38)-15,55-(19,65)
A44	(4,00)-5,07-(6,16)	(11,91)-14,07-(16,45)
A45	(3,69)-5,13-(6,67)	(11,18)-16,24-(21,69)
A46	(4,32)-5,37-(6,48)	(13,02)-16,50-(19,92)
A47	(4,71)-5,91-(7,07)	(13,77)-17,16-(21,44)
A48	(5,52)-6,13-(7,42)	(11,00)-13,94-(17,86)
A49	(4,22)-5,03-(6,67)	(17,29)-20,48-(22,60)
Összes izolátum	5,06	15,61

3. melléklet: Az izolátumokkal végzett vizsgálatok

Izolátum neve	Fungicides hatásvizsgálat	Molekuláris vizsgálat		
		ITS	CAL	HIS3
A0		X	X	X
A1	X	X	X	X
A2	X	X	X	X
A3		X	X	X
A4		X	X	
A5	X	X	X	X
A6	X	X	X	X
A7		X	X	X
A8		X		
A9		X	X	X
A10		X		
A11		X		
A12		X		
A13		X	X	X
A14		X		
A15		X	X	X
A16		X	X	X
A17		X	X	
A18		X	X	X
A19		X	X	X
A20		X		
A22		X	X	X
A23		X	X	X
A24		X		
A25		X		
A26		X		
A27		X		
A28		X		

Izolátum neve	Fungicides hatásvizsgálat	Molekuláris vizsgálat		
		ITS	CAL	HIS3
A29		X		
A30		X	X	X
A31		X	X	X
A32		X		
A33		X		
A34		X		
A35		X		
A36				
A37		X		
A38		X	X	
A39		X		
A40		X	X	
A41		X	X	
A42		X	X	X
A43		X	X	X
A44		X		
A45		X		
A46		X		
A47		X		
A48		X	X	X
A49		X		X
A_L1		X		
A_L2		X		
A_L3		X		
A_L4				
A_L5				
A_L6				
A_L7				

4. melléklet: *Colletotrichum* izolátumaink génbanki azonosító számai (ITS régió, hiszton 3 gén)

Izolátum neve	Génbanki azonosító szám	
	ITS	HIS3
A0	HG518667	LT627732
A1	FR716518	LT717003
A2	FR716517	LT717004
A3	LT717027	LT717005
A4	LT717028	
A5	LT717029	LT717006
A6	LT717030	LT717007
A7	LT717031	LT717008
A8	LT717032	
A9	LT717033	LT717009
A10	LT717034	
A11	LT717035	
A12	LT717036	
A13	LT717037	LT717010
A14	LT717038	
A15	LT717039	LT717011
A16	HE610587	LT627731
A17	LT717040	
A18	LT717023	LT717012
A19	LT717041	LT717013
A20	LT717042	
A22	LT717043	LT717014
A23	LT717044	LT717015
A24	LT717045	
A25	LT717046	
A26	LT717047	
A27	LT717048	

Izolátum neve	Génbanki azonosító szám	
	ITS	HIS3
A28	LT717049	
A29	LT717050	
A30	LT717051	LT717016
A31	LT717052	LT717017
A32	LT717053	
A33	LT717054	
A34	LT717055	
A35	LT717056	
A37	LT717057	
A38	LT717022	
A39	LT717058	
A40	LT717059	
A41	LT717060	
A42	LT717061	LT717018
A43	LT717062	LT717019
A44	LT717063	
A45	LT717064	
A46	LT717065	
A47	LT717066	
A48	LT717067	LT717020
A49	LT717068	LT717021
A_L1	LT717024	
A_L2	LT717025	
A_L3	LT717026	

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Első sorban szeretném kifejezni köszönetemet témavezetőimnek, Dr. Petróczy Mariettának és Dr. Palkovics Lászlónak, akik mellett 2009 óta tanulhattam, kutathattam. Köszönöm Dr. Petróczy Marietta áldozatos munkáját, türelmét, segítőkészségét és a dolgozatra fordított idejét, hogy bármilyen kérdéssel bármikor segítségemre volt. Köszönöm Dr. Palkovics László szakmai iránymutatását a tanulmányaim, kutatásaim és a dolgozat elkészülése folyamán. Köszönöm, hogy biztosították a kutatás létrejöttéhez szükséges feltételeket.

Köszönöm továbbá Dr. Nagy Gézának a sóskúti mintagyűjtések és permetezések; Fülöp Lászlónak a kiskunmajsai mintagyűjtések és permetezések során nyújtott segítségét.

Köszönöm Lovász Csabának a Bayer CropScience képviselőjének és Mándoki Andrásnak a Sumi Agro képviselőjének, hogy biztosították a kísérletekhez szükséges növényvédő szereket.

Köszönöm Ágoston Jánosnak, Fejes Istvánnak, Dr. Kovács Szilviának, Dr. Némethy Zsuzsannának, Dr. Salamon Pálnak a mintagyűjtések során nyújtott segítségét.

Hálás vagyok a Növénykórtani Tanszék minden volt és jelenlegi munkatársának, akik labormunkáim során segítettek. Külön köszönöm Dr. Pájtli Éva és Dr. Lantos Anna segítségét a molekuláris vizsgálatokkal kapcsolatban.

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Erdélyi Évának és Reiczigel Zsófiának az adatok statisztikai kiértékelésében nyújtott segítségükért.

Köszönöm hallgatóinknak, hogy a témából készítették el diplomadolgozatukat: Anik Júliának, Csömör Zsófiának, Koncz Lászlónak, Kovács Juditnak, Hegedűs Máriának, Rácz Klárának és Ujvári Péternek.

Végül köszönettel tartozom Családomnak, hogy tanulmányaim során mindvégig támogattak.

A kutatást az OTKA PD100425 számú pályázata támogatta.